LIGIA BURTA PATRICIA MARUSCA DIANA PELEA

Curs de microbiologie pentru Medicina Dentara



Editura Universitatii din Oradea
2007

Referenti stiintifici:
Prof.univ.dr. Gheorghe Bumbu
Prof.univ.dr. Ludovic Gilau

Culegere si prelucrarea datelor:

Olivia Ligia Burta
Diana Pelea
Patricia Ramona Marusca
Alina Cheregi
Dorina Farcas
Raluca Pop
Luminta Panescu

Colaboratori:

Otilia Micle
Adriana Constangioara
Monica Teaha
Ioana Mos
Dana Miclaus
Radu Iovan
Alin Balaj

Editare text:

Olivia Ligia Burta
Patricia Ramona Marusca

Design si grafica:

Olivia Ligia Burta
Alin Balaj
Patricia Ramona Marusca

Descrierea CIP a Bibliotecii Nationale a Romaniei
BURTA, OLIVIA LIGIA
Curs de microbiologie pentru Medicina Dentara/Burta Olivia – Ligia, , Pelea Diana, Marusca Patricia – Ramona
Bibliogr.
ISBN 978-973-759-327-6

C U P R I N S

MICROBIOLOGIA (*din limba greaca,* ***mycros*** *- mic,* ***bios*** *- viata,* ***logos*** *- a descrie*) este stiinta care studiaza organismele cu dimensiuni microscopice, de ordinul micrometrilor (*10^{-6}*) si nanometrilor (*10^{-9}*).

Lumea vie este compusa din *3* ***regnuri***:
- *Regnul animal*,
- *Regnul vegetal*,
- *Regnul Protista* (*alge, fungi, protozoare, bacterii*).

Agentii infectiosi implicati in ***patologia umana*** sunt in marea majoritate ***Protiste*** dar apartin si ***Regnului Animal*** (*helmintii/ viermii*).

Nota: Micologia *studiaza fungii,* ***Parazitologia*** *se ocupa de Protozoarele si Helmintii* implicati in *patologia umana, iar* **Bacteriologia** *studiaza bacteriile.*

Virusurile sunt *structuri neidentificate ca si celule (deoarece nu isi pot sustine independent procesele metabolice necesare supravietuirii si multiplicarii) de studiul lor ocupandu-se* ***virusologia****.*

Primele descrieri ale lumii microscopice au fost facute de ***A. Leewenhoek*** (*sec. XVII*) dar ***fondatorii microbiologiei*** se considera a fi ***Louis Pasteur*** (*chimist, 1822-1895*) si ***Robert Koch*** (*1843-1910*) deoarece ei au fundamentat *conceptul de etiologie specifica a bolilor infectioase*.

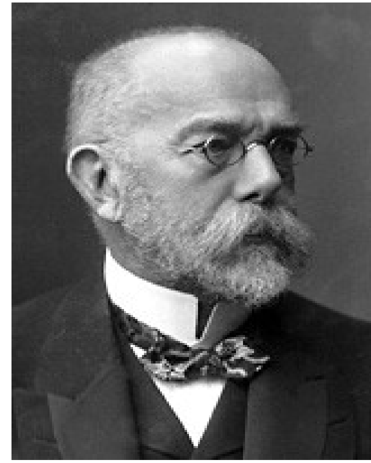


Antony van Leeuwenhoek

(1632 - 1723)



Louis Pasteur (1822 – 1895)



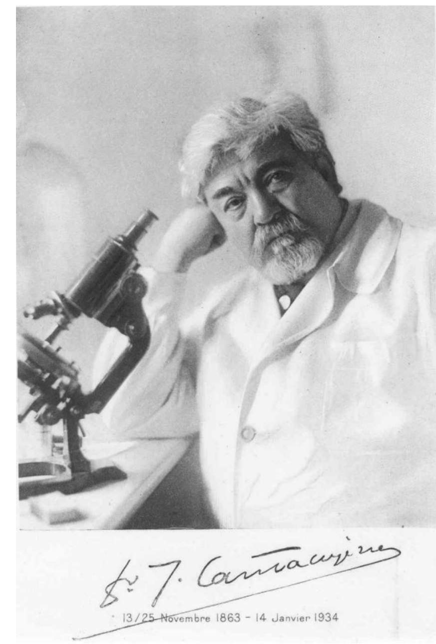
Robert Koch (1843 – 1910)

Sfarsitul secolului XIX este considerat revolutionar in microbiologie, in aceasta etapa fiind descoperiti *agentii etiologici ai principalelor boli infectioase* fiind recunoscuta ca si "***Epoca de aur***" a microbiologiei.

In *secolul XX,* se fac progrese remarcabile in ceea ce priveste intelegerea *organizarii structurale* si a *metabolismului microorganismelor*. De asemenea sunt descoperite diferite *antibiotice*, acestea fiind utilizate ulterior in tratarea unor boli infectioase de aceea *mijlocul secolului XX* este considerat ca fiind "***A doua Epoca de aur***" a microbiologiei.



Victor Babes (1854 – 1926)



Ion Cantacuzino (1863 – 1934)

Este foarte important sa mentionam *reprezentantii* de seama ai *microbiologiei romanesti:* ***Victor Babes*** (*1854-1926*) si ***Ion Cantacuzino*** (*1863-1934*) cel din urma fiind fondatorul *Institutului din Bucuresti,* care-i poarta numele (*1930*).

BACTERIOLOGIE- PARTEA GENERALA

Regnul PROTISTA este structurat in:

- Protiste superioare
- celule ***eucariote***: ***fungi, protozoare,*** *alge* (*cu exceptia *algelor verzi-albastre*)

- Protiste inferioare
- celule ***procariote: bacterii*** si ******alge verzi-albastre*.

PROPRIETATI GENERALE ALE BACTERIILOR

MORFOLOGIA BACTERIANA SI ULTRASTRUCTURA BACTERIANA

MORFOLOGIA BACTERIANA

Forma, dimensiunea *(de ordinul micrometrilor)* si ***asezarea bacteriilor*** pot fi evidentiate cu ajutorul ***microscopului optic***.

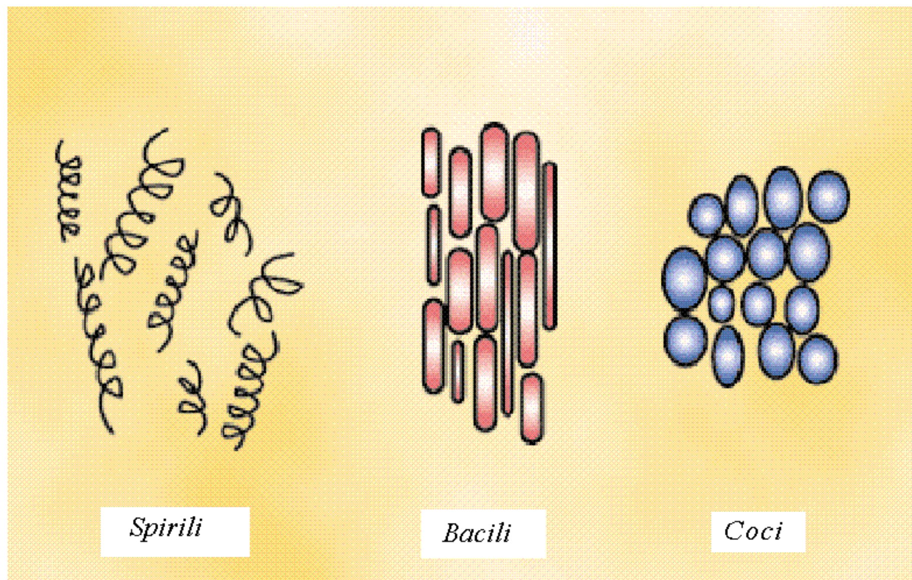


Fig. 1 – Formele fundamentale ale bacteriilor

Se descriu trei ***forme fundamentale (fig. 1)***:

1. *forma sferica-* ***coci,***
2. *forma de bastonas-* ***bacili***,
3. *forma spiralata-* ***spirili*** si
   *forme intermediare**- cocobacili***.

1. **Cocii** – sunt *rotunzi** si au *diametrul* de aproximativ *0.6- 1.0 µm*

   * exista forme deviate de la cea sferica, cum ar fi:
   - forma usor alungita - **streptococii**
   - in "*flacara de lumanare*"- **pneumococii**
   - "*boabe de cafea*": **gonococii, meningococii**

** dupa diviziunea celulara, *dispozitia* lor poate fi diferita: unii *pot ramane alipiti (fig. 2):*
- doi cate doi – asezare "***in diplo***": *pneumococii, gonococii, meningococii,*
- "*in **lanturi***" – *streptococii,*
- "*in **ciorchine***"- *stafilococii.*

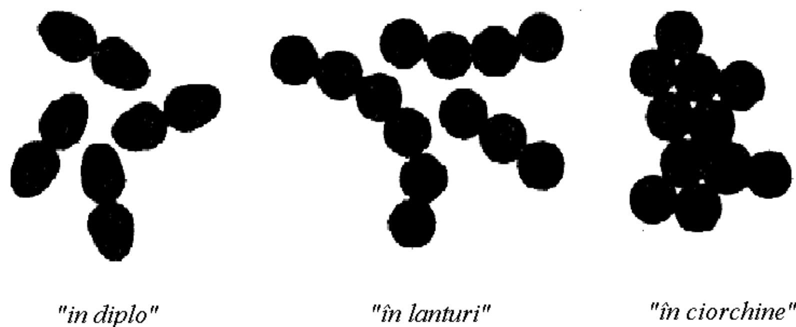


Fig. 2 – Dispozitia cocilor

2. **Bacilii** – au forma de **bastonase** (o forma aparte o au *vibrionii holerei***,** care sunt bacili scurti sub forma de virgula); bacilii:
- au *diametrul* longitudinal este mult mai mare (*de aproximativ 6-10 ori*) decat cel transversal,
- pot avea *capetele* drepte (*bacillus anthracis*) sau rotunjite,
- pot prezenta *aranjari* specifice:*
  - *in lanturi*- streptobacili *(fig. 3)*,

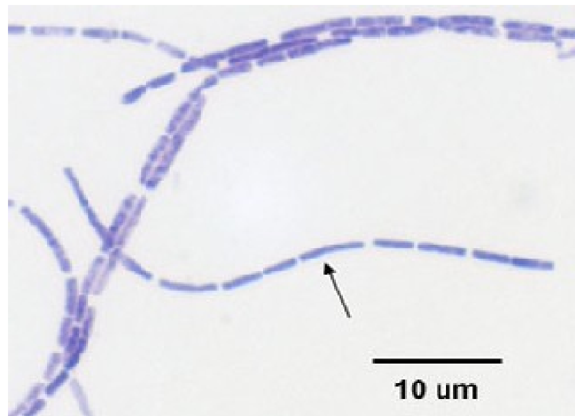


Fig. 3 – Dispozitia streptobacililor

- *in diplo*- diplobacili *(fig. 4)*,

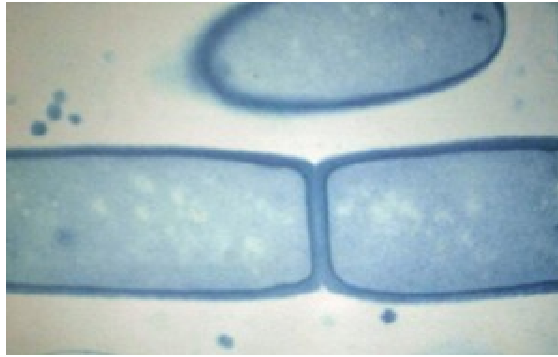


Fig. 4 – Dispozitia diplobacililor

- sau pot ramane cu capetele lipite formand diferite unghiuri: aspect de **litere chinezesti** *(bacilul difteric) (fig.5)*



Fig. 5 – Dispozitia bacililor difterici

- aspect de ramificatii a unor bacili foarte lungi (*Actinomyces spp*) *(fig. 6)*

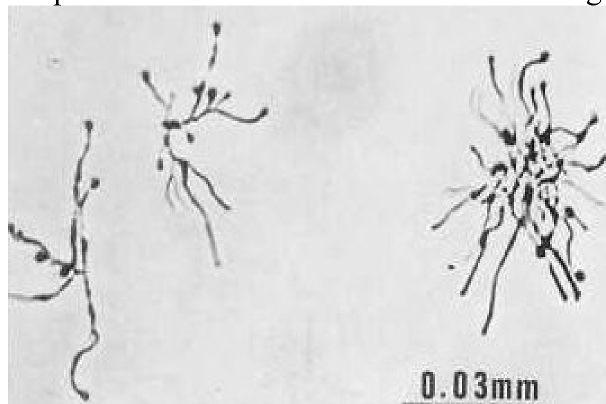


Fig. 6 – Dispozitia si aspectul bacililor din sp. Actinomyces

- in functie de prezenta anumitor **incluziuni** sau a **sporilor**, pot apare deformati:
  - forma de "*piscot*", de "*haltera*", cu asezare in gramezi,
  - forma de"racheta" sau "bat de tobosar" (*bacilii sporulati din genul Clostridium) (fig.7).*

.

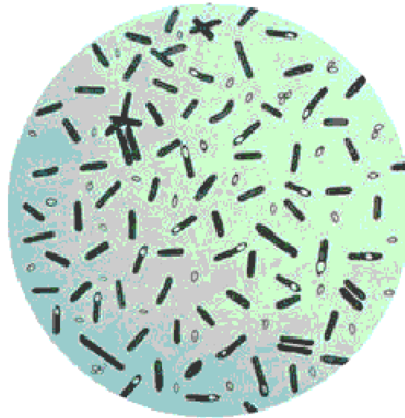


Fig. 7 – Aspectul bacililor sporulati din genul Clostridium

3. **Bacteriile cu forma spiralata** prezinta cateva variante:

- cu **o singura tura de spire**, avand forma de virgula (*vibrionii*) *(fig. 8)*,

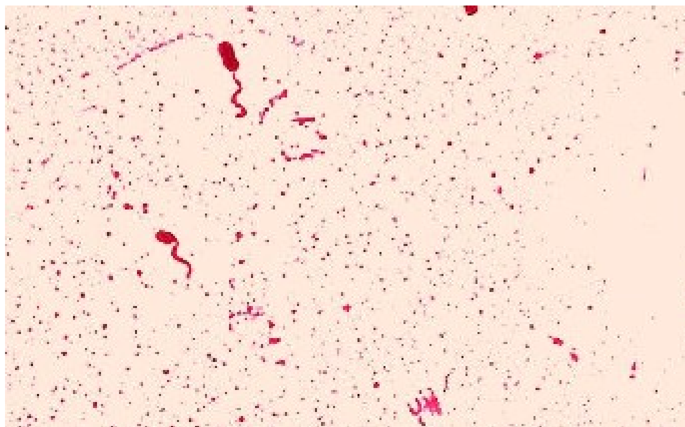


Fig. 8 – Vibrio cholerae

- bacterii cu **mai multe ture de spire**: *spirilii adevarati* (*saprofiti, cu perete rigid*) si **spirochete** (*in general patogene, cu perete flexibil si mobile*); acestea din urma sunt usor

de evidentiat la microscopul cu fond intunecat *(fig. 9)*, observandu-se motilitatea foarte mare a bacteriilor.



Fig. 9 –Treponema pallidum (evidentiata la microscopul cu camp intunecat)

Exista unele *abateri morfologice* de la cele 3 categorii mentionate mai sus:

4. ***Mycoplasmele*** *si* ***formele „L”*** *ale bacteriilor:*

- ***Mycoplasmele*** au structura asemanatoare cu a celorlalte bacterii, dar **nu au perete celular**; acest lucru explica faptul ca Mycoplasmele pot apare sub forme variabile (*cocoidale, filamentoase*) si prezinta o mare fragilitate.
- ***Formele „L”*** sunt forme derivate din celule bacteriene (*coci, bacili*); si se formeaza *sub actiunea anumitor antibiotice* (*Penicilina*) asupra peretelui celular bacterian.

5. ***Cocobacilii*** sunt forme intermediare intre coci si bacili *(fig. 10)*.



Fig. 10 – Cocobacilii (ME)

***Asezarea bacteriilor in preparatele microscopice** poate fi de un real folos in diagnosticul de laborator al infectiilor bacteriene.

Modul de aranjare (*dispozitie*) a bacteriilor este influentat de planurile de diviziune (*paralele, perpendiculare*…) si de tendinta celulelor fiice de a ramane atasate dupa diviziune *(fig. 11)*.

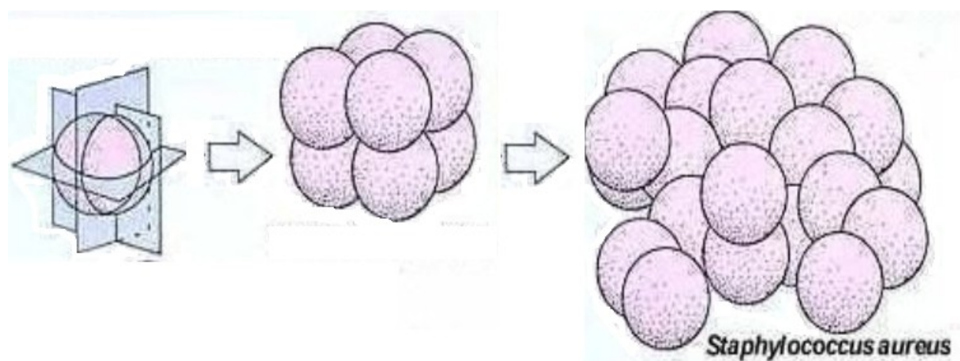


Fig. 11 – Dispozitia stafilococilor dupa diviziune

STRUCTURA CELULEI BACTERIENE

Fata de **celulele eucariote,** cu tip de organizare superior din punct de vedere structural si genetic**, bacteriile** au o organizare structurala mai simpla si sunt **celule de tip procariot** (*tabel I*).

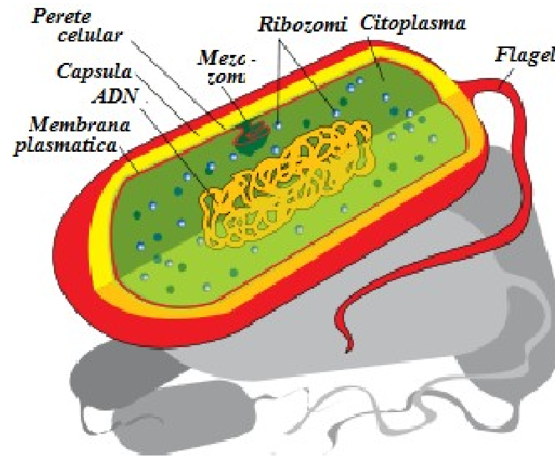
Tabel I. Diferentele semnificative dintre celulele eucariote si procariote

Nivelul structural	***Celule eucariote***	***Celule procariote***
Informatia genetica	**nucleu adevarat** • bine delimitat de membrana nucleara, ce prezinta pori • material nuclear organizat in **cromozomi** (*numarul lor este in functie specie*) • aparat **mitotic dezvoltat**	• **nucleoid** care este un echivalent nuclear *(nu este un nucleu propriu-zis)* • fara membrana nucleara, dispus lax intracitoplasmatic • **un singur cromozom** (1 molecula de ADN circular)
Cito-plasma	• **compartimentata,** cu organite specifice: ribozomi, reticul endoplasmatic, lizozomi, mitocondrii	• **necompartimentata,** fara organite specifice, cu **exceptia ribozomilor** (*rol in sinteza proteinelor structurale si functionale*)
Peretele celular	• **fara perete celular**	• **structura obligatorie** a bacteriilor (*exceptie Mycoplasmele si formele L*)
Diviziunea celulara	• **meioza** si **mitoza**	• prin **sciziparitate**

Celula bacteriana prezinta doua tipuri de formatiuni structurale *(fig. 12)*

- **A. obligatorii (***prezente la toate speciile bacteriene***)** si sunt reprezentate de**:**
    - **nucleoid** (*echivalent nuclear*)**,**
    - **citoplasma,**
    - **membrana citoplasmatica** si
    - **perete celular** (*cu exceptiile prezentate mai sus*);

- **B. facultative (***care apar doar la anumite tulpini bacteriene***)** si sunt**:**
    - **cilii** (*flagelii*),
    - **pilii** (*fimbrii*),
    - **spor** (*endospor*) si
    - **capsula**.



<u>*Fig. 12 – Structura celulei bacteriene*</u>

A. STRUCTURILE OBLIGATORII ALE CELULEI BACTERIENE

Nucleoidul sau **echivalentul nuclear** nu poseda membrana nucleara, fiind raspandit in toata citoplasma si este reprezentat de *cromozomul unic bacterian* - o molecula de ADN circular, ce codeaza informatia genetica.

In citoplasma celulei bacteriene mai pot exista molecule mici de *ADN extracromozomial*, reprezentat de *plasmide* (*acestea codifica in general caractere de patogenitate cum ar fi rezistenta la antibiotice, sinteza de exotoxine, eliberare de substante cu potential toxic pentru alte bacterii, cunoscute sub denumirea de bacteriocine*).

Citoplasma este fin granulata si puternic bazofila, datorita continutului crescut in **ribozomi** si ARN.

Sintezele proteice sunt codificate de catre *ADN-ul bacterian*, iar informatia este copiata pe *mARN-mesager*, iar intracitoplasmatic *tARN-de transport*, aduce la nivel ribozomal AA corespunzatori secventei codate si *rARN- ribozomal* participa la *sinteza moleculei proteice structurale* sau *functionale* ale celulei).

Pot fi descrise si *alte structuri citoplasmatice*:

- *incluzii* cu *material de rezerva* pentru metabolismul celular, de exemplu incluzii cu metafosfati - *corpusculii metacromatici Babes - Ernst* la bacilul difteric si *incluzii cu glicogen* la Enterobacterii;
- *vacuole* (*ce contin lichid sau gaze*).

Membrana citoplasmatica a celulei bacteriene se situeaza intre citoplasma si peretele celular si are o *structura trilaminara fosfolipidica* similara cu a celorlalte membrane celulare.

Rolurile membranei sunt multiple functionand ca:

- *Bariera osmotica* (*permeabilitate doar pentru apa si molecule proteice mici*),
- *Membrana selectiva* (*constituentii utili din mediu sunt directionati in citoplasma prin transport activ*),
- *Functie bioenergetica* (*preia rolul mitocondriilor din celulele eucariote, la acest nivel se genereaza si se stocheaza energia celulara*),
- *Formarea septului de diviziune* (*cu participarea mezozomului care este o invaginare a citoplasmei*),
- *Sinteza peretelui celular* si a membranelor sporale,
- *Structura tinta* pentru *dezinfectante* (*detergenti*) si *antibiotice* (*Polimixine si Colistine*).

Peretele celular *(fig. 13)* este *structura externa* a celulei bacteriene cu numeroase *functii:*

- *Structura tinta* pentru lizozim si antibiotice (*β lactaminele: Peniciline, Cefalosporine*),
- *Sediul sistemelor de transport* pentru substantele nutritive**,**
- *Sediul receptorilor pentru bacteriofagi* (*virusuri ale bacteriilor*) si *bacteriocine,*
- *Structura antigenica de suprafata* (*antigenul O somatic pe baza caruia se poate face clasificarea diferitelor bacterii*),
- Participa la *diviziunea celulara***,**
- Imprima *proprietatile morfotinctoriale* (*forma si raspunsul la diferite metode de colorare*):
    - raspunsul diferentiat la **coloratia Gram** (*care este coloratia uzuala in bacteriologie*) se datoreaza structurii diferite a peretelui celular, astfel se pot identifica: **Gram pozitive** (*cu grosimea mai mare a peretelui dar cu structura mai simpla, bacteriile fiind colorate in* ***violet***) si **Gram negative** (*peretele celular este foarte subtire, dar structura mult mai complexa, bacteriile fiind colorate in* ***rosu***)

- prin coloratia speciala **Ziehl-Neelsen** se identifica *bacilii acido- alcoolorezistenti* **(***bacilul tuberculos*) *colorati in rosu,* datorita continutul crescut in lipide (*acizi micolici*) al peretelui celular.

Peretele celular la bacteriile **Gram pozitive**, are o grosime de *15-50 nm*, fiind constituit din mai multe straturi suprapuse de *peptidoglicani* (*proteine, polizaharide si acizi teichoici, acestia din urma au un rol important in aderarea si colonizarea mucoaselor si sunt dotati cu proprietati antigenice avand abilitatea de a induce sinteza de anticorpi specifici*).

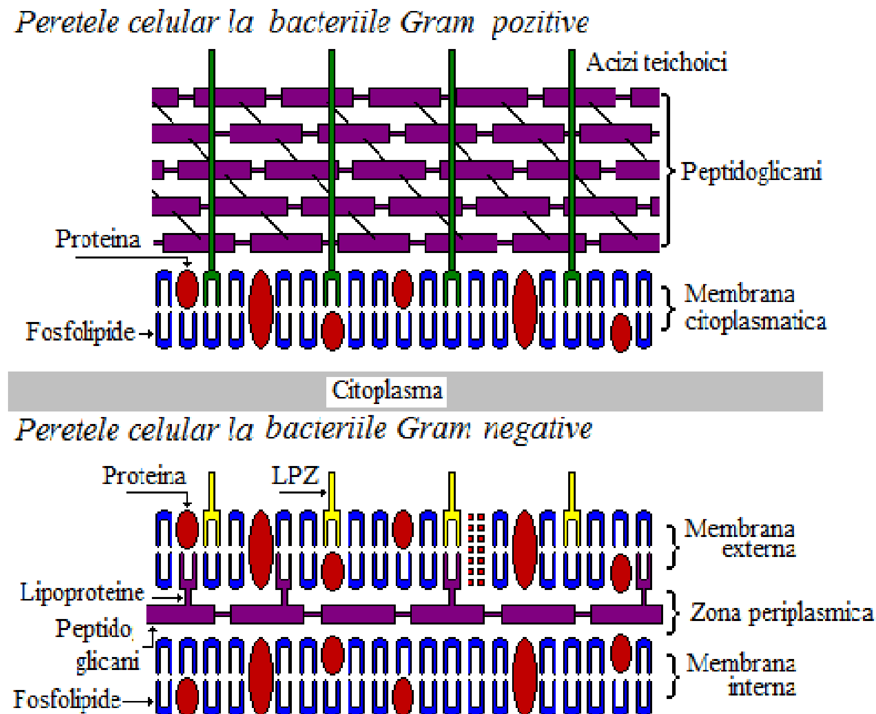


Fig. 13 – Structura peretelui celular la bacteriile Gram pozitive si bacteriile Gram negative

Peretele celular la bacteriile **Gram negative** este mai subtire (*3-8 nm*) dar este mai complex din punct de vedere structural. La periferia *membranei citoplasmatice* se gaseste *zona periplasmica*, la nivelul careia se afla *peptidoglicanul*; aceasta zona este marginita la exterior de *membrana externa*, peste care se suprapune un *strat polizaharidic*, care are un dublu rol: este *antigenic* (**antigenul O** de suprafata) si reprezinta **endotoxina** bacteriilor Gram negative, care se elibereaza in mediu doar in urma lizei celulare.

B. FORMATIUNILE FACULTATIVE ALE BACTERIILOR

Cilii *(flagelii)* sunt formatiuni apendiculare de natura proteica cu rol in *propulsarea celulei* (*organe de locomotie*) spre sursa de hrana (*chemotactism*).

Sunt formatiuni specifice **bacteriilor mobile** si de regula apar la *bacili* sau *vibrioni* cu o ***lungime*** *mai mare* decat corpul bacterian.

In functie de numarul cililor si de asezarea acestora, se descriu mai multe tipuri *(fig. 14)*:

- **atriche,** fara cili (*bacterii imobile*),
- **monotriche**, cu cil unic la unul dintre poli (**A**),
- **lofotriche,** cili multipli (*manunchi*) la unul dintre poli (**B**),
- **amfitriche**, cu cate un cil la ambii poli (**C**),
- **peritriche**, cu cili multipli in jurul celulei bacteriene (**D**).

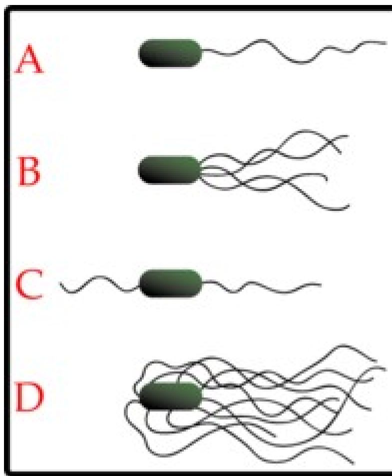


Fig. 14 – Tipurile de bacterii in functie de numarul si dispozitia cililor

Prezenta **cililor** confera un important **factor de patogenitate** la bacterii, deoarece proteinele ciliare (*flagelinele*) sunt *antigenice* **(***antigenul H- flagelar***)** fiind capabile sa determine *sinteza de anticorpi specifici*.

Pilii (fimbriile)

Sunt structuri multiple, scurte, drepte, filamentoase, rigide (*nu au rol in locomotie si pot exista atat la bacterii mobile cat si imobile*). In general sunt dispusi la suprafata celulei (*peritriche*).

Reprezinta factori de patogenitate, avand origine proteica (*piline*) cu functie antigenica (*abilitatea de a induce sinteza de anticorpi specifici).*

Apar mai ales la bacteriile **Gram negative** (*Neisserii, Pseudomonas, Enterobacterii*) si din punct de vedere functional sunt de doua tipuri:

a. Pili comuni (*somatici*) care sunt *codificati cromozomial* si au rol in *aderarea* la structurile celulare tinta (*de exemplu colonizarea epiteliilor consta in aderarea bacteriilor la receptorii celulari, urmata de multiplicarea lor*) dovedindu-se patogenitatea lor; de asemenea sunt *receptori pentru bacteriofagi* (*virusuri ale bacteriilor*) proprietate care permite *lizotiparea tulpinilor* in functie de prezenta receptorilor fata de un anumit bacteriofag.

b. Pili de conjugare (*sexuali*) sunt codificati de plasmide si au rol in transferul de material genetic extracromozomial (*plasmide*) intre perechi de celule: donoare si acceptoare, prin *fenomenul de conjugare* (*prin intermediul pililor de conjugare ai celulei donoare, se creeaza un canal prin care materialul genetic este transferat celulei acceptoare, care astfel capata proprietati noi, in special de rezistenta fata de anumite antibiotice fata de care pana atunci a fost sensibila*).

Capsula. In *conditii naturale de viata* se presupune ca unele specii bacterii ar prezenta un *invelis de suprafata***, glicocalix**, cu rol in *aderare* la structurile tinta; acesta este reprezentat de o masa de *fibre polizaharidice intretaiate;*

Se evidentiaza la *microscopul optic ca un halou necolorat in jurul celulei*; se pot utiliza coloratii speciale pentru evidentierea sa (*cu tus de China*). sau prin reactia de umflare a capsulei cu ajutorul **anticorpilor antiK** (*anticapsulari*).

Este prezenta la: pneumococi (*Streptococcus pneumoniae*) *Haemophillus, Klebsiella*, meningococi (*Neisseria meningitidis*), *Clostridium perfringens.*

Cele mai importante dintre functiile pe care capsula le indeplineste, sunt:

- *functia antifagocitara* si de *rezistenta* la actiunea factorilor fizici si chimici,
- *aderare la receptorii* structurilor tinta,
- inhiba activitatea bactericida a sistemului complement si a altor factori serici,
- reprezinta material de rezerva celular,
- este antigenica (*antigenul K- capsular*).

La unele bacterii exista doar un **strat mucos de suprafata** (*evidentiat doar electronomicroscopic*).

Sporul bacterian reprezinta *forma de rezistenta a bacteriilor* la conditiile nefavorabile din mediu, identificata ca o *stare dormanta a bacteriilor***,** in care nu se sintetizeaza proteine**.**

Reprezinta o *proprietate de specie* si este utila in *identificarea bacteriilor***.** Cu ajutorul *microscopului electronic* se poate evidentia *structura complexa* a acestuia in care cortexul determina rezistenta la caldura si la mentinerea deshidratarii.

In **conditii nefavorabile**, *forma vegetativa** a bacteriei trece in forma de rezistenta (*spor)* prin procesul de ***sporulare;*** cand sporul ajunge in **conditii prielnice**, pierde invelisurile si revine la forma vegetativa prin procesul de ***germinare***.

Nota: * **forma vegetativa** este forma capabila sa se multiplice si sa produca boala.

Din punct de vedere al *patologiei umane* sunt implicate doua genuri bacteriene sporulate**:** **Genul Bacillus** (*B. anthracis*) si **Genul Clostridium** (*C. tetani, C. botulini, C. perfringens*)

Daca dimensiunea sporilor este mai mare decat diametrul transversal al celulei bacteriene forma celulei va fi modificata, cu variantele de:

- asezare terminala **(***forma de bat de tobosar*) **Clostridium tetani** *(fig. 15)*,



Fig. 15 – Clostridium tetani (100x)

- asezare subterminala (*forma de racheta)* **Bacillus cereus** *(fig. 16)*,

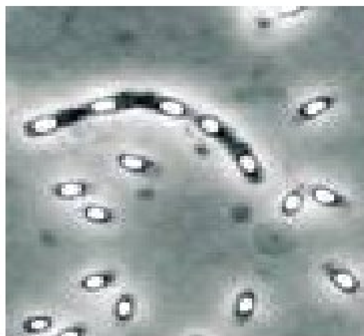


Fig.16 – Bacillus cereus (IF)

- asezare centrala (*forma de suveica*) **Bacillus anthracis** *(fig. 17)***.**

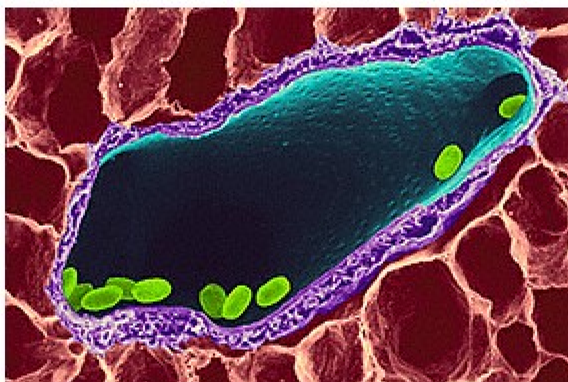


Fig. 17 – Bacillus anthracis (IF)

Metodele de sterilizare tin cont de posibilitatea prezentei tulpinilor sporulate, motiv pentru care atat intervalul de timp cat si nivelul temperaturii sunt adaptate acestei eventualitati, de aceea si metoda de control a sterilizarii se face cu tulpini sporulate de *Bacillus stearotermophillus.*

METABOLISMUL BACTERIAN

Bacteriile, ca si la celelalte celule vii, pot fi descrise atat pe baza **compozitiei chimice**: proteine, lipide, glucide, apa, NaCl…, cat si a **metabolismului** (*prezinta o mare varietate metabolica ce nu se intalneste la organismele superioare*).

Principalele ***cai*** ale ***metabolismului bacterian*** sunt:

- *ciclul acizilor tricarboxilici*,
- *glicoliza* - calea de degradare anaeroba a glucozei,
- caile de *degradare oxidativa ale acizilor grasi*,
- *sinteza proteinelor* pe baza informatiei continute de molecula de ADN.

Cunoasterea *proprietatilor metabolice ale bacteriilor* are o ***importanta medicala*** deosebita, in vederea:

- ***izolarii*** *bacteriilor patoge*ne in produsele patologice ale bolnavilor,
- ***identificarii*** lor si
- ***testarii sensibilitatii*** *lor la diferite* ***antibiotice****.*

CARACTERELE GENERALE, PROPRII METABOLISMULUI BACTERIAN

Metabolismul bacterian **are o serie de *particularitati* prin care se individualizeaza:**

- este ***unicelular*** - intreaga activitate se desfasoara strict in interiorul unei singure celule,
- este ***necompartimentat*** - in citoplasma nu sunt organite celulare (*cu exceptia ribozomilor*)
- este ***teleonomic*** - in timp s-au dezvoltat reactii metabolice si sisteme de control care sa le asigure o mare eficienta,
- are o ***mare flexibilitate*** - permite adaptarea rapida a bacteriei la conditii variabile de mediu,
- are o ***intensitate crescuta*** si o viteza mare de reactie (*de exemplu E.coli are un timp de diviziune de aproximativ 20 min*),
- este ***restrictionat genetic*** (*cromozomul bacterian codifica sinteza a aproximativ 3000 proteine*).

Pentru ***izolarea*** si ***identificarea bacteriilor*** in conditii de laborator, trebuie furnizate *conditii optime de metabolism*, implicit de *multiplicare*, asigurate prin utilizarea unei game largi de *medii de cultura*, cu compozitie variata ce contin: *amestec de substante nutritive, glucoza, sursa de carbon, acetat* sau *de azot, saruri de Mg, Fe*.

Aceste *medii de cultura* trebuie sa asigure in aceeasi masura *substante nutritive*, *pH* optim, *osmolaritatea* si *potentialul redox* necesar unei *multiplicarii optime* a bacteriilor, cu conditia si a asigurarii *temperaturii optime* in timpul incubarii.

Temperatura reprezinta un factor foarte important de mediu care influenteaza multiplicarea bacteriilor, putand fi:

- *minima* - sub care bacteriile se divid lent,
- *maxima* - peste care bacteriile nu se mai divid si
- ***optima*** **-** la care multiplicarea se face cu viteza specifica speciei.

In functie de **temperatura optima**, bacteriile *se clasfica* in:

- ***criofile*** - cele care se dezvolta optim la *10^oC*, dar care se pot dezvolta si la *0^oC* (*important in cazul alimentelor conservate la rece*),
- ***mezofile*** - cele care au *temperatura optima* la *30-40^0C* (*cele mai multe, intre 35- 37^0C*); majoritatea bacteriilor implicate in patologia umana sunt mezofile - pentru izolarea lor este necesara asigurarea unei temperaturi de *37^0C*,
- ***termofile*** - au temperatura optima *60-70^0C*, dar exista si bacterii care se dezvolta la *100^0C* (*fierbere*) - important de cunoscut in cazul bacteriilor din apele termale si a solurilor expuse la lumina si caldura solara.

pH-ul optim

Majoritatea bacteriilor se dezvolta la un ***pH neutru*** (*pH de 7*) insa exista bacterii care prefera ***valori extreme de pH***, cum sunt:

- *Lactobacillus* (*flora vaginala*) care prefera ***pH acid*** (*pH de 2*),
- *Vibrio cholerae* care are un ***pH optim foarte alcalin*** (*de 9,2*) pentru izolarea si identificarea lui, utilizandu-se un *mediu de imbogatire alcalin – apa peptonata*.

Osmolaritatea este conditionata de *concentratia sarurilor din mediu de dezvoltare*:

- *majoritatea* bacteriilor sunt ***osmotolerante***, se dezvolta mai bine la o concentratie fiziologica a sarurilor,
- exceptii sunt unele bacterii care se dezvolta mai bine in conditii de *osmolaritate crescuta*, cum sunt ***stafilococii*** (*halotoleranti*) pentru a caror izolare se utilizeaza *mediul Chapmann*, ce contine *NaCl de 9%.*

TIPURI DE NUTRITIE LA BACTERII

Necesitatile metabolice ale bacteriilor sunt definite pe baza a *doua criterii majore:*

- ***sursa de energie*** si
- ***sursa de carbon***.

In functie de **sursa de energie**, bacteriile pot fi:

- ***fototrofe*** - bacterii fotosintetice care *utilizeaza energia solara*,
- ***chimiotrofe*** - utilizeaza energia obtinuta din *degradarea substantelor chimice*:
    - *chimio**organotrofe*** - cand se utilizeaza *substante organice* si
    - *chimio**litotrofe*** **-** cand se utilizeaza *substante anorganice*.

In functie de **sursa de carbon** utilizata, bacteriile pot fi:

- ***autotrofe*** - se dezvolta pe medii alcatuite doar *din substante anorganice* si intregul material celular este sintetizat pornind numai de la CO_2,
- ***heterotrofe*** - utilizeaza ***carbonul*** din ***substante organice*** (*majoritatea* ***bacteriilor patogene***);
- ***mixotrofe*** - cele care pot utiliza carbonul atat din CO_2 cat si din ***substante organice***.

Bacteriile care *„paraziteaza”* omul se pot identifica ca si: **chimioorganotrofe**, **heterotrofe**, **mezofile** si **osmotolerante**.

Pentru ***activitatile celulare bacteriene*** (*mobilitatea ciliara, transportul activ…*) este nevoie de o anumita cantitate de **energie** pentru generarea careia exista *multiple posibilitati; energia* in final va fi *stocata in legaturi macroergice* si va fi *eliberata* in functie de *nevoile celulare*.

Dupa **tipul de eliberare a energiei** si efectele **oxigenului din mediu**, bacteriile pot fi:

- ***strict aerobe*** cu urmatoarele caractere:
    - folosesc *respiratia oxibiotica*,
    - se dezvolta *numai in medii cu oxigen*,
    - exemple sunt bacteriile din genurile *Mycobacterium, Bacillus*;

- ***strict anaerobe*** care nu au enzime de degradare a H_2O_2, (*catalaza, peroxidaza*) de aceea:
    - *oxigenul* le este *toxic* (*in prezenta sa s-ar produce* H_2O_2, *cu efect toxic*),
    - folosesc *procesele fermentative* pentru eliberarea energiei,
    - exemple sunt bacteriile din genurile *Clostridium, Bacteroides, Fusobacterium, Peptostreptococcus, Veillonella;*

- ***aerob – anaerob facultative***:
    - energia necesara este obtinuta prin *fermentatie* sau *respiratie oxibiotica,* in functie de *prezenta* sau *absenta oxigenului din mediu*,
    - sunt reprezentate de *majoritatea bacteriilor patogene* pentru om;
- ***anaerobe – aerotolerante***:
    - obtin energia prin *fermentatie*, dar *oxigenul nu le este toxic,*
    - *se pot dezvolta si in medii cu oxigen* (*Streptococcus mutans- din flora comensala a santului gingival, implicat in patogeneza cariei dentare*);
- ***microaerofile***:
    - se dezvolta in prezenta unei *cantitati mici de* CO_2 (*5-20%*),
    - exemple sunt *Brucella spp, Neisseria spp*.

Exista si bacterii care au **necesitati metabolice suplimentare**:

- *glucoza, saruri minerale* ca si *sursa de carbon***,**
- anumiti *aminoacizi,* din care-si vor putea sintetiza proteinele specifice *(azot aminic),*
- *azotul anorganic***:** NH_4^+, nitriti, nitrati,
- *factori de crestere:* vitamine, aminoacizi, nucleotide, baze azotate, acizi grasi, colesterol, alti factori X,V (*Haemophillus*).

Nutritie de tip paratrof exista la *microorganismele* care prezinta *defecte metabolice*, care le obliga sa „***paraziteze***" o alta celula vie pentru a putea supravietui si multiplica.

Anabolismul bacterian este reprezentat de totalitatea proceselor metabolice care asigura biosinteza materialului celular necesar pentru cresterea si multiplicarea microorganismelor.

Procesele anabolice se desfasoara in mai multe etape:

- patrunderea substantelor nutritive in celula,
- biosinteza proteinelor structurale si functionale pe baza informatiei genetice,
- controlul activitatii enzimatice.

CRESTEREA SI MULTIPLICAREA BACTERIILOR

La un moment dat, in conditii favorabile toti *constituentii celulari se dubleaza cantitativ*, parte ca procesului de *diviziune celulara* (*sciziparitatea*). *Invaginarea membranei citoplasmatice* dublate de *invaginarea peretelui celular*, determina aparitia *septului de diviziune* care permite *separarea celor doua celule-fice* (*identice atat intre ele cat si cu celula parentala*).

Suma evenimentelor celulare de la *initierea sintezei proteice* pana la *diviziunea celulara* constituie **ciclul celular**; acesta este *controlat de ADN–ul cromozomial* care *codifica proteinele* si *se replica inainte de diviziunea celulara***.**

Multiplicarea celulara poate fi urmarita „*in vitro*" pe medii de cultura lichide, prin:

- ***evaluarea numarului total de celule vii si moarte*** (*numaratoare automata sau microscopic in camera de numarare*),
- ***evaluarea numarului total de celule vii*** (*prin transfer pe medii de cultura solide stiindu-se ca dintr-o celula se dezvolta o singura colonie*),
- ***evaluarea masei celulare*** (*dupa centrifugare si uscare*),
- *determinarea fotometrica* (*DO*) care permite ***evaluarea numarului de celule vii din 1 ml de suspensie bacteriana***.

Pe baza acestor date s-a putut construi **curba de dezvoltare a bacteriilor**, care prezinta urmatoarele ***faze***:

- de ***latenta*** - faza de pregatire celulara pentru crestere si multiplicare,
- de ***initiere a accelerarii multiplicarii***,
- de ***crestere celulara*** si ***multiplicare logaritmica*** (*cresterea cantitatii de ARN, a numarului de ribozomi si a activitattii metabolice*); in aceasta faza bacteriile sunt foarte sensibile la agentii fizici si antibiotice,
- ***stationara*** sau ***de*** platou –cand numarul de celule vii este aproximativ egal cu al celor moarte
- ***de declin*** - cand *numarul celulelor moarte il depaseste pe cel al celulelor vii* urmata de *scaderea pana la epuizare a substantelor nutritive din mediu, scaderea pH si a concentratiei* O_2*, cu acumularea de produsi toxici* si *supravietuirea unui numar mic de bacterii in suspensie*, pentru o perioada foarte lunga de timp.

ACTIUNEA AGENTILOR FIZICI SI CHIMICI ASUPRA BACTERIILOR

Anumite conditii de mediu **pot avea un** *efect favorabil* **sau** *nefavorabil* **asupra *dezvoltarii bacteriilor*.**

Efectele nefavorabile pot fi identificate ca si:

- ***bacteriostatice*** cand are loc *atenuarea sau oprirea multiplicarii bacteriilor*, insa ***fara a se produce moartea*** lor, este un ***proces reversibil*** si
- ***bactericide - omorarea bacteriilor***, ***proces ireversibil***.

Efectele factorilor de mediu asupra bacteriilor sunt *conditionate de*:

- *natura microorganismului* si *forma de existenta a bacteriilor* (*vegetativa sau spor)*,
- *caracterele de specie*,
- *compozitia chimica* a bacteriiilor si
- *faza de dezvoltare a culturii bacteriene*.

Efectele agentilor fizici asupra microorganismelor, pot fi utilizate frecvent *in practica medicala,* cu diferite scopuri:

- ***sterilizarea*** (*obiectelor, instrumentarului, alimentelor, mediilor de cultura…*)
- ***dezinfectia*** (*suprafetelor de lucru, aerului din incaperi*)
- obtinerea de ***vaccinuri*, *seruri***, *alte* ***preparate bacteriene***,
- ***conservarea*** anumitor ***tulpini bacteriene***,
- obtinerea de ***suse bacteriene*** cu ***virulenta atenuata*** sau ***nula***.

Sterilizarea se defineste ca totalitatea *metodelor fizice* (*caldura, radiatii, ultrasunete*) prin care sunt ***distruse toate formele bacteriene*** (*inclusiv sporii*) atat de la suprafata cat si din interiorul obiectelor supuse acestui procedeu.

Dezinfectia se defineste prin totalitatea *metodelor chimice* prin care se ***distrug majoritatea bacteriilor patogene*** de pe suprafetele de lucru sau obiectelor, precum si de la suprafata tegumentelor si mucoaselor (***antiseptizarea***).

ACTIUNEA AGENTILOR FIZICI

Temperatura **poate avea un *efect favorabil* sau *nefavorabil* asupra *dezvoltarii si multiplicarii bacteriilor*.**

Temperatura inalta **actioneaza prin ruperea legaturilor intramoleculare ale proteinelor si altor molecule, actiunea fiind potentata de *prezenta apei*, deoarece aceasta are o conductivitate termica crescuta, iar actiunea este mai rapida.**

Majoritatea *formelor vegetative* **sunt distruse la *50- 60^{0}C*, pentru siguranta se utilizeaza temperatura de** *56^{0}C*, **valoare peste care toate formele vegetative sunt distruse.**

Sporii **contin o cantitate mica de apa, prin urmare sunt mult mai rezistenti la temperatura crescuta, fiind distrusi la temperaturi cuprinse intre** *100-180^{0}C*, **astfel se explica de ce** autoclavarea (***120^{o}C, 1 atm, 30 min***) **este *cea mai eficienta metoda de sterilizare*, distrugand atat *sporii* cat si *formele vegetative*.**

Desicarea **sau *uscarea la aer* permite indepartarea apei din celulele bacteriene insotita de modificari structurale importante (*denaturari proteice, concentrarea unor saruri*) care duc in final la *distrugerea formelor vegetative* la unele specii bacteriene, in *cateva ore* (*pneumococ, gonococ, Vibrio cholerae)* si *in cateva zile* in prezenta radiatiilor solare a bacilului Koch.**

Temperatura scazuta

Liofilizarea **este o metoda prin care se pot obtine *preparate* utile *in terapia antibacteriana* si consta in *conservarea in vid* a unor tulpini bacteriene prin utilizarea unei solutii protectoare de proteine, prin *racire la -78^{0}C* (*zapada carbonica*).**

Temperaturile scazute, **in jurul celei de** *0^0C*, **au un *efect bacteriostatic* si astfel bacteriile pot fi conservate in *stare de latenta* o perioada indelungata.**

Congelarea **microorganismelor - se poate realiza la temperaturi cuprinse intre** *-78^0C* **si** *-20^0C*; ***se prefera congelarea rapida* care conserva structurile celulare, deoarece *congelarea lenta* duce la aparitia unor *cristale aciculare intracitoplasmatice* care in final induc ruperea structurilor celulare.**

RADIATIILE

Radiatiile **sunt definite ca *modalitatea de propagare si transmitere a diferitelor forme de energie in spatiu*; energia este produsa de:**

- ***miscarea undelor sub actiunea campurilor electrice* si**
- ***miscarea particulelor atomice emise de substantele radioactive*.**

In functie de *lungimea de unda, timpul de expunere* **si** *marimea sursei*, *efectele* **acestor radiatii pot fi:**

- ***de stimulare a functiilor biologice,***
- ***aparitia mutatiilor induse* si**
- ***moartea celulara*.**

Mecanismele **prin care se pot produce aceste modificari sunt:**

- ***cresterea vibratiilor interatomice,***
- ***excitarea electronilor,***
- ***ruperea moleculelor cu rearanjarea ADN (mutatiile)***
- ***denaturari proteice,***
- ***aparitia de compusi toxici (H_2O_2, O_3, alti ioni, diferiti produsi de degradare ai acizilor nucleici, aminoacizilor, bazelor azotate, lipidelor, glucidelor...).***

Radiatiile neionizante **sunt reprezentate in primul rand de radiatiile din *spectrul UV*; *sursa naturala* de *UV* este reprezentata de *radiatiile solare*, iar ca *surse artificiale* sunt utilizate *lampile cu cuart*.**

Aceste tip de radiatii actioneaza *pe ADN–ul celular* si au un *efect puternic bactericid*. Radiatiile UV sunt utilizate la *sterilizarea suprafetelor netede si a aerului din incaperi.*

Radiatiile ionizante **sunt reprezentate de *molecule ionizate* care reactioneaza cu toate moleculele din jur producand mai multe tipuri de *efecte nocive:***

- ***radioliza apei* prezenta in diferite structuri celulare (*producerea de H^+, OH^-, H_2O_2*),**
- ***leziuni ale moleculelor de ADN* urmate de blocarea multiplicarii celulare.**

***Sursele* de radiatii ionizante sunt: *electronii de mare viteza* (*radiatiile* *β si γ*) *undele electromagnetice* (*radiatiile* *X*) *neutronii* si *nucleii de Heliu* (*radiatiile* *α*).**

Ultrasunetele **determina *ruperea peretelui celular* cu *dezintegrarea structurilor intracelulare* si *eliberarea de energie sub forma de caldura* (*se dezvolta temperaturi ridicate de 50-80^{0}C*) care determina *moartea bacteriilor*. Celulele procariote sunt mult mai sensibile decat cele eucariote, iar sporii bacteriilor sunt foarte rezistenti la actiunea ultrasunetelor.**

Agentii chimici **actioneaza asupra formelor vegetative ale bacteriilor. In general acestia sunt utilizati pentru *distrugerea bacteriilor de pe diferite suprafete* (*inclusiv tegumente si mucoase*) sau *din aer*.**

Un *antiseptic eficient* **trebuie sa indeplineasca urmatoarele cerinte:**

- ***sa omoare germenii la concentratii foarte mici intr-un timp cat se poate de scurt,***
- ***sa posede un spectru antibacterian larg,***
- ***sa fie solubil si stabil in apa si solventi organici,***
- ***sa nu fie toxic sau iritant pentru tesuturi,***
- ***sa fie penetrant in tesuturi,***
- ***sa nu coloreze si sa nu se combine cu materiile organice.***

Agentii chimici **pot** actiona **prin mai multe tipuri de** mecanisme:

- ***denaturarea proteinelor,***
- ***interferenta cu gruparile chimic active ale proteinelor,***
- ***actiune prin halogenarea sau oxidarea unor compusi,***
- ***actiune reducatoare,***
- ***alterarea permeabilitatii peretelui celular (agentii tensioactivi).***

Agentii de denaturare a proteinelor **sunt reprezentati de:**

- acizii organici si anorganici **cu actiune oxidanta; efectul lor depinde de *concentratia H^+*,**
- bazele **au o eficienta cu atat mai mare cu cat *concentratia OH^-* este mai mare,**
- alcoolii **au efect bactericid la concentratii de *50-70%* si actioneaza prin mai multe mecanisme: *denaturarea proteinelor, distrugerea complexelor lipidice din structura membranelor, scaderea tensiunii superficiale,***
- sarurile **(*NaCl*) in concentratii foarte mari pot avea efecte toxice sau inhibitorii.**

Agentii care interfera cu gruparile chimic active ale proteinelor **(*enzime*) actioneaza prin *cuplarea cu gruparile –SH*; principalii reprezentanti ai acestei categorii sunt: *sarurile de*** *Hg*, ***sarurile de*** *Ag* **(*$AgNO_3^-$ utilizat pentru prevenirea oftalmiei gonococice*) si *sarurile de*** *Cu* **(*antifungic*).**

Agentii **care actioneaza prin** halogenare **si** oxidare **sunt reprezentati de:**

- *derivati de Clor* (***hipoclorit de Na, K, clor gazos, cloramine***) **- agenti de halogenare**
- *derivati de Iod* **(*tinctura de iod, alcool iodat*)**
- *peroxidul de hidrogen 3%*
- *permanganatul de potasiu*

(derivatii de iod, peroxidul de hidrogen si permanganatul: **agenti de oxidare**)

Agentii chimici alchilanti cu efect reducator **sunt in general gazosi si sunt utilizati pentru *decontaminarea suprafetelor si aerului din incaperi*.**

Principalii reprezentanti sunt:

- formolul **care actioneaza *in atmosfera umeda* in *concentratie de 70%*, la *20^{0}C*; este utilizat si pentru *obtinerea anatoxinelor* dar si ca *fixator* de *tesuturi* sau *conservant*,**
- glutaraldehida **care este utilizata pentru *dezinfectarea instrumentarului* si a *tuburilor de cauciuc*; are o actiune puternic *bactericida, sporulicida, fungicida* si *virulicida,***
- oxidul de etilena **in asociere cu** CO_2 **este utilizat in *sterilizarea materialelor termolabile* cu ajutorul autoclavelor (*sub presiune*),**
- diferiti coloranti **(*violetul de gentiana, cristalul violet, verdele malachit, verdele briliant*) au un *efect bacteriostatic*, unii chiar *efect bactericid*; sunt utilizati si ca *adaos in mediile nutritive selective* sau ca *indicatori de pH*; colorantii bazici sunt mai eficienti decat cei acizi.**

Agentii care altereaza permeabilitatea peretelui celular, **sunt de regula agenti tensioactivi, reprezentati de:**

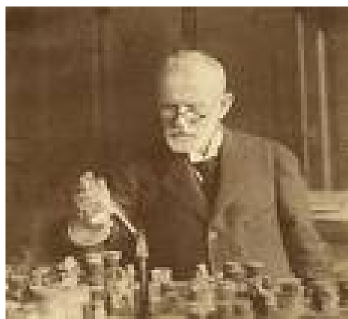
- *detergenti anionici, cationici* **(*gruparea activa* NH_4^+) si** *neionici***,**
- *sapunuri* **(*indeparteaza mecanic impuritatile*),**
- *fenolii **si** derivatii* **lor sunt utilizati frecvent ca si conservanti pentru vaccinuri si seruri.**

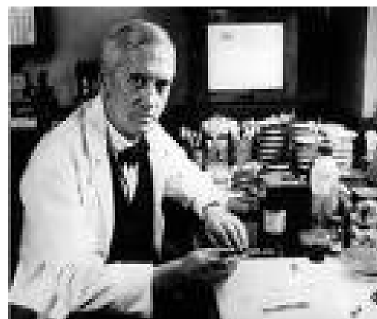
CHIMIOTERAPIA ANTIBACTERIANA

Sta la baza *tratarii unor boli infectioase* folosind *substante chimice naturale* sau *de sinteza*, cu scopul de *a inhiba dezvoltarea germenilor patogeni* sau de a produce *moartea lor*.

Parintele chimioterapiei moderne este **Paul Erlich** (*chimist*) care a stabilit modelul experimental de studiu al chimioterapicelor.

In anul 1929, **Flemming** a obtinut prima substanta cu actiune bactericida: **penicilina**. Aceasta s-a folosit pe scara larga incepand cu anul 1940 sub forma stabila, de sare de sodiu.





Paul Ehrlich (*1854-1915*)

Alexander Fleming (*1888-1955*)

Aparitia *penicilinei* a fost inceputul unui lung sir de descoperiri de substante rezultate din metabolismul unor microorganisme, cum sunt *Streptomicina* din *Streptomyces cerevisiae* si *Cefalosporinele* din *Penicillinum cephalosporum.*



Fig.18 – Cultura de Streptomyces cerevisiae

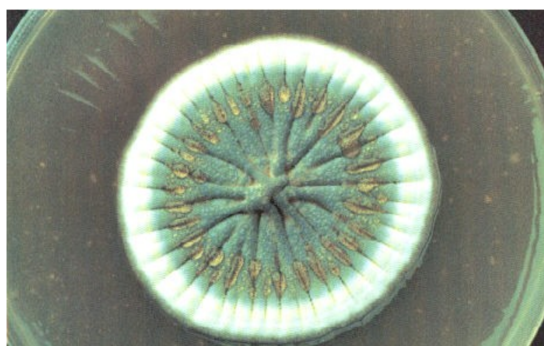


Fig. 19 – Cultura de Penicillinum cephalosporum

In paralel s-au dezvoltat tehnicile industriale de obtinere a substantelor antibiotice si chimioterapice.

Antibioticul actioneaza de cele mai multe ori asupra sintezei de proteine la nivelul unitatilor ribozomale.

Chimioterapicul este substanta cu actiune antimicrobiana care are toxicitate selectiva in doze mici, interferand specific cu o cale metabolica sau cu o anumita enzima care are rol vital pentru viata bacteriei, in general cu actiune pe peretele celular sau membrana citoplasmatica.

Pentru ca aceste substante sa poata fi utilizate, trebuie sa prezinte anumite ***caracteristici***:

- sa actioneze in *doze mici*,
- sa posede o *actiune selectiv - toxica*, fara efecte nocive la om si animale, dar cu activitate de inhibare a multiplicarii bacteriilor (*efect bacteriostatic*) sau chiar de omorare a acestora (*efect bactericid*),
- sa actioneze *in mediu organic*,
- sa *difuzeze in tesuturi*.

Spectrul de actiune al antibioticelor depinde de numarul total de specii bacteriene asupra carora actioneaza, putandu-se identifica:

Spectrul larg de actiune:

- Aminoglicozidele (*Streptomicina, Kanamicina, Gentamicina*),
- Tetraciclinele (*Tetraciclina, Oxitetraciclina*),
- Fenicoli (*Cloramfenicol*),
- Sulfamide,
- Nitrofurani.

Spectrul restrans de actiune:

- Macrolide (*Eritromicina*),
- Polipeptidele ciclice (*Polimixin, Colistin*),
- Tuberculostatice (*Etambutol*).

Antibiotice cu pozitie particulara (*initial aveau un spectru restrans, insa ulterior derivatii obtinuti si-au largit spectrul de actiune*):

- Familia Betalactamine (*Peniciline, Ampicilina, Cefalosporine*).

Deoarece antibioticele difera mult intre ele, au fost grupate in **familii de antibiotice/ chimioterapice** care reunesc substantele care:

- au origine comuna,
- au structura asemanatoare,
- au mecanisme de actiune identica,
- au un spectru antibacterian similar.

In general, antibioticele actioneaza prin:

- legarea de o molecula si astfel este impiedicata biosinteza unor macromolecule sau structuri celulare (*de exemplu penicilinele*),

- competitia antagonica pentru un anumit metabolit esential (*de exemplu sulfamidele*).

In functie de **locul** si **mecanismul de actiune**, se pot identifica antibiotice care:

1. inhiba sinteza **peretelui celular**,
2. care altereaza **membrana citoplasmatica**,
3. care au actiune asupra **aparatului genetic**:
    a. impiedicarea replicarii ADN-ului,
    b. impiedicarea transcrierii ADN-ului in ARN;
4. inhibarea sintezei proteice la nivel **ribozomal.**

1. INHIBAREA SINTEZEI PERETELUI CELULAR

Beta-lactaminele au o structura asemanatoare cu a unui component repetitiv din structura peretelui celular; ele pot actiona diferit asupra unor enzime reglatoare ale sintezei peretelui celular:

- *blocarea centrului activ al transpeptidazei*, impiedicandu-se astfel legarea lanturilor polizaharidice prin punti transversale,
- *activarea carboxipeptidazei* din structura peretelui celular, care duce la o liza extinsa a peretelui celular; in final rezulta *sferoplasti* si *protoplasti* care se vor liza in mediu hipoton (*actiune bactericida*).

Reprezentantii acestei familii sunt:

PENICILINELE

- au un *spectru larg de actiune* (*cele sintetice*),
- au o *toxicitate redusa*,
- pot induce *stari de hipersensibilitate de tip imediat*, care se soldeaza cu soc anafilactic,
- *penicilinele sintetice* in asociere cu alte componente, au proprietati noi care le asigura:
    - stabilitatea in mediu acid,
    - absorbtie crescuta la nivel gastrointestinal,
    - rezistenta la actiunea unor metaboliti bacterieni (*de exemplu la β lactamaze - enzime care scindeaza β lactaminele*).

Penicilina G (*sare de sodiu sau de potasiu*) - se administreaza doar parenteral, fiind instabila in mediul acid gastric,

Peniciline *stabile in mediu acid*: **Penicilina V, Ampicilina, Amoxicilina**,

Peniciline *rezistente la β lactamaze* sunt **Oxacilina, Meticilina**,
Penicilina cu spectru larg: **Carbenicilina**.

CEFALOSPORINELE

- au o activitate similara cu clasa anterioara,
- au spectrul de actiune mai larg decat Penicilinele,
- initial au fost izolate din *Penicillinum Cephalosporinum,*
- de-a lungul timpului s-au sintetizat *generatii succesive de Cefalosporine*, cu spectru antibacterian din ce in ce mai larg:

*Generatia **I***: Ce*ph*alexin, Ce*ph*alotin, Ce*ph*azolin (*regula „ph" in denumirea antibioticului*) cu spectrul de actiune asemanator cu al Ampicilinei; nu sunt active pe *enterococi si stafilococi meticilinorezistenti.*

*Generatia **a II-a***: Ce*fa*mandole, Ce*fur*oxime (*regula „fa", „fur" in denumirea antibioticului*) cu un **spectru mai larg de actiune**, incluzand: anaerobi, Haemophillus influenzae, unele Enterobacterii; actiunea pe germenii Gram pozitivi este mai redusa.

*Generatia **a III-a***: *Ceftazidime, Cefoperazona, Cefotaxime*; au spectrul de actiune ca si cele din generatia a II-a, dar in plus sunt active si pe **bacilul piocianic.**

*Generatia **a IV-a***: *Cefepime* cu o activitate crescuta pe Enterobacterii, enterococi si stafilococi meticilinorezistenti.

ALTE ANTIBIOTICE CU MECANISM DE ACTIUNE TIP PENICILINIC, DAR CU SPECTRU DE ACTIUNE MAI LARG

Monobactame – *Aztreonam* cu actiune si pe bacilii Gram negativi,

Carbapemene - *Imipenem, Meropenem* - are actiune si pe: bacilii Gram negativi, bacterii Gram pozitive, atat aerobe cat si anaerobe.

2. ALTERAREA MEMBRANEI CITOPLASMATICE

Polipeptidele ciclice - au un mecanism asemanator detergentilor; duc la dezorganizarea membranei celulare cu pierderea functiei de bariera osmotica, ceea ce duce la efluxul metabolitilor esentiali si implicit la moartea celulara.

Gramicidina - determina blocarea enzimelor din lantul respirator, cu decuplarea transferului de electroni si blocarea proceselor de producere si stocare a energiei celulare.

3. INHIBAREA SINTEZEI ACIZILOR NUCLEICI

Rifampicina

- impiedica transcrierea ADN-ului in ARN,
- actioneaza asupra bacilului Koch si a cocilor Gram pozitivi anaerobi,

- are efect bactericid,
- in general se administreaza in asociere cu alte antibiotice.

Quinolonele (*Acid Nalidixic, Metronidazol*) si **Fluoroquinolonele** *(Ciprofloxacin, Norfloxacin, Pefloxacin, Ofloxacin)* sunt:

- utilizate in infectii ale tractului urinar,
- actioneaza mai ales pe bacteriile Gram negative.

Sulfamidele

FH4 (*acid tetrahidrofolic*) este un metabolit esential utilizat in timpul sintezei bazelor azotate (*purinice si pirimidinice*) din care se vor asambla ulterior acizii nucleici in timpul replicarii celulei bacteriene; in conditii normale lantul de reactii este: *PABA→FH2→FH4,* unde ***PABA*** este ***acidul para-amino-benzoic, FH2*** este ***acidul dihidrofolic*** si *reductaza* este enzima care controleaza a doua parte a reactiei;

Sulfamidele au o structura asemanatoare cu PABA si vor intra in lantul de reactii, astfel incat in final va rezulta o molecula de *FH4 nefunctionala*, deci sinteza acizilor nucleici si implicit multiplicarea celulelor va fi oprita. Sulfamidele sunt active asupra celulelor care isi sintetizeaza singure FH4.

Trimetoprimul are o mare afinitate pentru reductaza, iar actiunea sa se va traduce prin oprirea reactiei de transformare a *FH2* in *FH4;* deoarece *sulfamidele* si *trimetoprimul* actioneaza pe aceeasi cale metabolica avand efect sinergic, preparatele care le contin pe ambele, sunt mai eficiente *(de exemplu Biseptolul*).

PAS (*acid para-aminosalicilic*) se integreaza in lantul de reactii in locul lui PABA si vor avea acelasi efect ca si sulfamidele, de *oprire a sintezei acizilor nucleici*. PAS este utilizat in tratamentul tuberculozei

4. INHIBAREA SINTEZEI PROTEINELOR

Sunt antibiotice cu:

- spectru larg,
- efect in general *bacteriostatic* (*exceptie Aminoglicozidele care au un efect bactericid*)
- abilitatea de a se lega de unitatile ribozomale, astfel incat codul genetic va fi citit eronat si in final vor rezulta *proteine non-sens*.

Reprezentantii sunt:

- Familia **Aminoglicozide** (*Streptomicina, Kanamicina, Gentamicina*) - cu administrare parenterala,
- **Tetraciclinele** (*Tetraciclina, Oxitetraciclina, Doxyciclina, Minociclina*) care sunt utilizate in tratamentul infectiilor cu bacterii cu dezvoltare strict intracelulara (*Chlamydia, Mycoplasme, Ricketssii*..),

- **Cloramfenicol** – cu spectru de actiune asemanator cu al Tetraciclinei, actionand si asupra Salmonelelor, anaerobilor, meningococilor si Haemophillus influenzae; deoarece interfera si cu sinteza proteinelor umane (*hematopoieza medulara*) se administreaza cu prudenta,
- **Macrolidele** (*Eritromicina, Clindamicina, Claritromicina, Azitromicina*) reprezinta o alternativa de tratament in infectiile cu bacterii Gram pozitive (*de exemplu Streptococ β-hemolitic de grup A*) si la persoanele alergice la Penicilina. Pot fi utile si in tratamentul infectiilor cu Mycoplasma.

Utilizarea pe scara larga a chimioterapicelor e urmata de aparitia si selectarea unor variante rezistente. Rezistenta bacteriilor la chimioterapice se instaleaza variabil, in functie de specia bacteriana si in functie de chimioterapic, astfel bacteriile Gram negative (*Enterobacterii, bacil piocianic*) si anumite bacterii Gram pozitive (*stafilococ, enterococ*) au o capacitate crescuta de a castiga rezistenta la antibiotice. In foarte putine situatii se pastreaza constant sensibilitatea fata de antibiotice (*de exemplu Streptococul beta-hemolitic de grup A este sensibil la Penicilina, motiv pentru care nu se va efectua antibiograma*).

MECANISME DE CASTIGARE A REZISTENTEI LA ANTIBIOTICE

Variatia sensibilitatii tulpinilor bacteriene la diferite antibiotice este codificata de informatia genetica cromozomiala si extracromozomiala.

A. Mecanismele cromozomiale

1. Mutatia are un caracter universal; ea poate apare oriunde si oricand in lumea vie.

Intr-o populatie bacteriana, mutatia este responsabila **de castigarea rezistentei fata de un singur antibiotic**. Aceasta rezistenta poate fi de doua tipuri functie de timpul necesar atingerii nivelului maxim de rezistenta.

Rezistenta de tip streptomicinic - se castiga intr-o singura treapta si este de la inceput la nivel maxim.

Rezistenta de tip penicilinic - se castiga in mai multe trepte si in final se ajunge la un nivel ridicat.

2. **Transferul de material genetic** intre celule se poate realiza prin mecanisme diferite:

Transformarea – consta in transferul in anumite conditii a ADN-ului unei tulpini (*dotate cu un anumit factor de patogenitate care ii asigura virulenta crescuta*) in celulele altei tulpini (*lipsite de acest factor de patogenitate*); in final aceasta din urma capata proprietati noi, similare cu tulpina de la care a primit informatia.

Transductia reprezinta transferul de material genetic care se realizeaza prin intermediul bacteriofagilor temperati.

B. Mecanisme extracromozomiale

Conjugarea prin intermediul pililor de conjugare; astfel se formeaza perechi de bacterii donatoare (piliate) cu bacterii primitoare (nepiliate) intre care se formeaza un canal de

comunicare, prin care fragmentul de ADN extracromozonial (continut in plasmida) este transferat bacteriei nepiliate; in urma diviziunii celulare si bacteria primitoare va prezenta pe suprafata ei pili (codati de plasmida transferata). De obicei se transfera rezistenta la antibiotice.

Reguli de instituire si conducere a chimioterapiei

Instalarea unui tratament adecvat constituie o operatie de mare responsabilitate medicala. Nu este recomandata utilizarea antibioticelor de catre persoane neinformate si fara a avea o baza stiintifica pentru fundamentarea strategiei.

Regulile ce este bine a fi respectate, sunt:
1. stabilirea unui *diagnostic precoce de infectie bacteriana* (*nu orice stare subfebrila se trateaza cu antibiotice; poate fi vorba despre o infectie virala*),
2. stabilirea *diagnosticului etiologic* si *selectarea antibioticului* in functie de rezultatul obtinut la antibiograma,
3. in forme grave ale unor infectii, se poate interveni cu antibiotice inaintea obtinerii rezultatului la antibiograma, optand pentru schema care s-a demonstrat statistic a avea cea mai mare eficienta; ulterior, antibioticul va fi mentinut sau inlocuit in functie de starea clinica a pacientului, precum si de rezultatul antibiogramei,
4. nu se initiaza tratamentul cu antibiotice inainte de recoltarea produselor patologice necesare diagnosticului,
5. daca tratamentul este indelungat, se recomanda repetarea examinarii si a antibiogramei pentru surprinderea aparitiei eventuale a rezistentei fata de antibiotic,
6. in general se administreaza antibioticul in monoterapie; in cazuri extreme, se pot administra antibiotice in asociere (*daca au efecte sinergice*).

GENETICA BACTERIANA

Genetica este stiinta care studiaza ereditatea - transmiterea relativ stabila a proprietatilor caracteristice, intr-o succesiune de generatii.

Studiul geneticii bacteriene a stat la baza studiului genetic in general, deoarece codul genetic este unic in lumea vie; faptul ca exista bacterii care au un timp de generatie de 20 minute (*de exemplu E. coli*) permite studiul unui numar mare de generatii, in timp foarte scurt.

Caractere generale ale geneticii bacteriene permit:

- cultivarea pe medii sintetice,

- posibilitatea asigurarii de conditii reproductibile sau a variatiei controlate a conditiilor de mediu,
- studierea intr-un interval relativ scurt a unui numar mare de generatii,
- obtinerea de variante (*suse bacteriene*) deosebite fata de populatia initiala (*salbatica*),
- studierea ereditatii cromozomiale care poate fi dublata de ereditatea extracromozomiala, reprezentata de plasmide si bacteriofagi.

Codul genetic este reprezentat de o *succesiune de codoni*; un codon este reprezentat de un *triplet de nucleotide*; acesta codifica un aminoacid care va intra in structura lantului protidic intr-o pozitie corespunzatoare pozitiei codonului in structura genei.

Caracterul ereditar este relativ stabil pentru ca pot apare modificari in secventa de nucleotide, ceea ce determina aparitia unor caracteristici noi.

Mecanismele care duc la ***variatii genetice*** sunt:
1. *mutatia* - poate fi spontana sau indusa (*de factori fizici sau chimici*);
2. *transfer de material genetic intercelular* cu realizarea unei *recombinari genetice.*

Variantele care apar intr-o populatie bacteriana, opereaza distinct la 3 **nivele**:
1. **genomic** - modificarea secventei de nucleotide are loc la nivelul ADN-ului bacterian,
2. **celular** - modificarile genetice induc sinteza de noi proteine si ca urmare un nou tip de celula cu caractere distincte (**modificarile genotipice** sunt dublate de **modificari fenotipice**),
3. **populatie bacteriana** - prin multiplicari repetate ale celulei modificate.

Modificarile genotipice si fenotipice apar intr-o singura celula in timpul diviziunii. Daca modificarea nu constituie un avantaj, celula dispare. Daca modificarile constituie un avantaj, celula cu proprietati noi se poate multiplica alaturi de celelalte celule, rezultand un amestec de celule salbatice si variante in proportii variabile; in final populattia varianta poate inlocui complet populatia salbatica.

Organizarea materialului genetic in celula bacteriana

Cromozomul bacterian (*nucleoid/ echivalent nuclear*) (*fig. 20*):

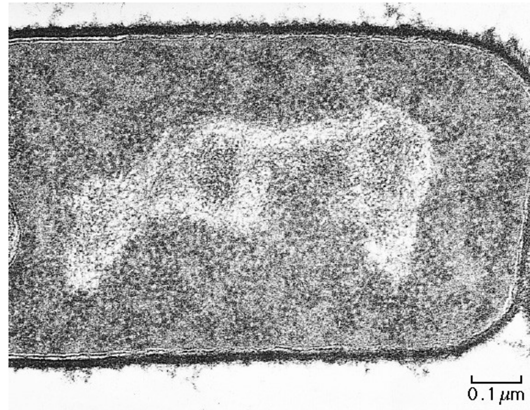


Fig. 20 – Cromozomul bacterian
(portiunea mai deschisa la culoare din interiorul celulei)

- este reprezentat de o molecula de ADN inchisa in cerc si impachetata superhelicoidal
- contine in jur de 5-6000 de gene; o gena este reprezentata de o secventa unica de perechi de baze azotate care codifica o proteina unica si care poate avea lungimi variabile
    - gene structurale - care codifica sinteza proteinelor de structura
    - gene reglatoare - care controleaza functia ADN-ului;
    - gene pentru sinteza ARN mesager, ARNribozomal si ARN de transfer.

Molecula de ADN are un dinamism propriu care-i asigura in timpul ciclului celular **autoreplicarea** (*dublarea*) si **transcrierea** informatiei de pe ADN pe ARN.

Bacteriofagii - sunt virusuri ale bacteriilor (*fig. 21*):

- prezinta o capsida ce contine o molecula de acid nucleic si o coada prin intermediul careia se ataseaza la receptori specifici prezenti la suprafata structurilor tinta (*pili, capsula, perete celular*); in celula patrunde doar acidul nucleic fagic care va asigura multiplicarea sa.

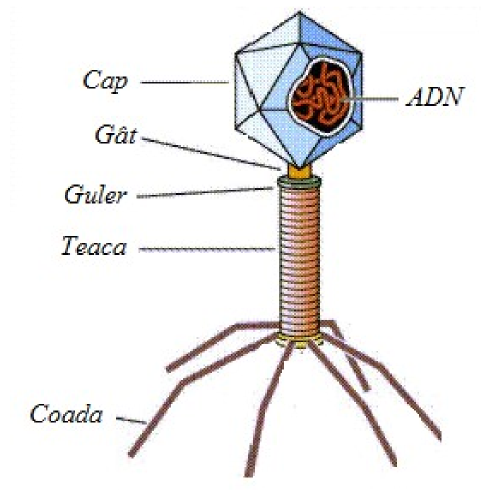


Fig. 21 – Structura bacteriofagului

- exista doua cicluri:
  - **Ciclul litic** - acidul nucleic ramane autonom in citoplasma si dirijeaza intreg metabolismul celular spre sinteza materialului bacteriofagic; in final se vor asambla bacteriofagi maturi intr-un numar crescut; acestia vor fi pusi in libertate prin liza celulei bacteriene gazda si vor putea incepe un nou ciclu litic prin invadarea altor celule bacteriene;
  - **Ciclul lizogen** - nucleic fagic se integreaza in ADN-ul bacterian si se replica in paralel cu acesta; rar acidul nucleic fagic se poate desprinde de cromozom si sa ramana autonom in citoplasma, unde va initia un ciclu litic.

Plasmidele *(fig. 22)* sunt (molecule de ADN cu structura asemanatoare cu cea cromozomiala (*cerc inchis, superhelicoidal*). Pot exista in stadiu autonom in citoplasma sau integrate in cromozomul bacterian (*epizomi*).

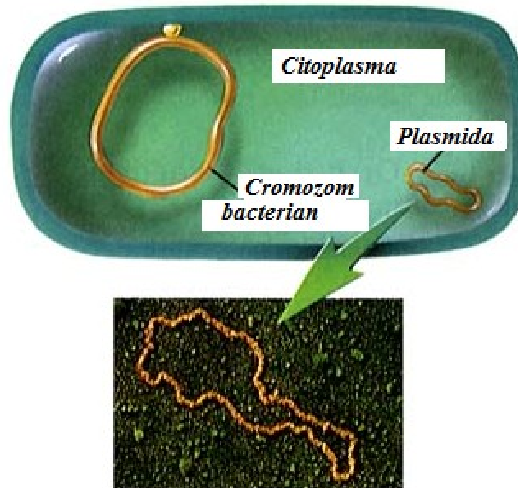


Fig. 22 – Plasmida

Transferul de material genetic la bacterii

Transferul de material genetic la bacterii se poate face prin variate mecanisme:

1. Transformarea - consta in integrarea unui fragment liber de ADN provenit de la o tulpina cu anumite proprietati, in ADN-ul unei tulpini bacteriene care nu poseda proprietatea respectiva.

De exemplu o tulpina de pneumococ capsulat (*capsula fiind factor de patogenitate*) este omorata si se extrage ADN-ul liber; daca acest ADN se pune in contact cu o tulpina de pneumococ necapsulat (*nepatogen*) si se asigura anumite conditii, ADN-ul liber se va integra in celulele integre ale pneumococului necapsulat; in final acesta va capata proprietatile fenotipice ale tulpinii donoare de informatie genetica (*va deveni capsulata*) .

2.Transductia. **Toate speciile bacteriene prezinta bacteriofagi proprii (*au receptori specifici la nivelul peretelui celular*). Acidul nucleic al bacteriofagului odata injectat in celula bacteriana tinta, poate urma una din caile:**

2.**1. integrarea in genomul bacterian prin recombinare genetica;**

2.2. **ramane autonom in citoplasma bacteriei, astfel incat in cursul diviziunii celulare va ramane intr-o singura celula;**

2.**3. integrarea in genomul bacterian, intr-o pozitie fixa; prin excizie poate declansa ciclul litic (*bacteriofagul lambda*).**

3. Conjugarea – se efectueaza prin intermediul plasmidelor conjugante. Acestea transmit in general caracterul de rezistenta fata de un anumit tip de antibiotic (plasmide R**) sau transmit un factor de sex (*pilii*) (**plasmidele F**). Doua celule bacteriene: una** F+ **(*piliata*) si alta** F- **(*nepiliata*) se apropie si prin intermediul pililor se realizeaza contactul dintre cele doua. Se creeaza un canal prin care se va transfera liniar o catena plasmidica, astfel incat in final ambele celule vor fi F+ (*piliate*).**

INFECTIA

Infectia este rezultatul *conflictului* dintre *microorganismele parazite patogene* si *organismul uman*, cu tendinta de a produce *perturbari ale homeostaziei* acestuia din urma.

In cazul patrunderii microorganismelor patogene in organismul uman, acesta mobilizeaza o serie de mecanisme care tind sa diminueze perturbarea homeostaziei induse, toate *aceste mecanisme de aparare ale organismului* se regasesc in notiunea de *infectie.*

„Intre organismul infectat si microorganismul patogen se declanseaza un *conflict de tip militar*, in care fiecare combatant isi pune la bataie toate mecanismele de aparare pe de o parte si de agresiune pe de alta parte"

Infectia:

- se poate manifesta clinic prin numeroase *semne* si *simptome* care definesc o anumita *boala infectioasa,*
- poate sa nu fie asociata cu semne aparente de perturbare functionala - in cazul *formelor fruste* (*inaparente/subclinice*).

Specificitatea etiologica. Postulatele lui Koch

In intentia de a defini un microorganism capabil de a induce infectia, ne stau la indemana postulatele lui Koch; astfel:

1. microorganismul trebuie sa fie prezent in toate cazurile de boala
2. microorganismul trebuie sa fie izolat si mentinut in cultura pura in conditii de laborator
3. inocularea culturii pure la animalele de laborator induce infectie
4. microorganismul care a produs boala determina instalarea unei *aparari specifice* (*imunitatea*).

Evolutia stadiala a infectiei

Infectia parcurge mai multe etape din momentul in care microorganismul intra in organism:

- **perioada de incubatie** - reprezinta perioada de timp care trece de la patrunderea microorganismului in organismul gazda pana la aparitia primelor semne de boala (*aceasta perioda este variabila si in acelasi timp caracteristica fiecarei infectii*)
- **perioada de debut** care coincide cu aparitia primelor semne ce atrag atentia asupra unui proces infectios (*febra, cefalee, inapetenta…)*
- **perioada de stare** cand se instaleaza tabloul clinic caracteristic (*de exemplu sindromul meningeal: cefalee, fotofobie, redoarea cefei, varsaturi in jet…*)

- **perioada finala** cand cel mai frecvent evolutia este *spre vindecare*, dar pot apare si **situatii particulare**:
  - *starea de purtator cronic* pentru diferiti agenti patogeni (*de exemplu pentru: Salmonella, Staphilococcus aureus, Steptococcus pyogenes /streptococ β hemolitic de grup A*)
  - *infectii latente* care pot determina recidive in conditii care favorizeaza multiplicarea (*de exemplu virusurile Herpes simplex 1 si 2 sunt neurotrope, determinand infectii latente in neuronii senzitivi ce deservesc zona cutanata afectata initial*).
  - *sechele motori(virusurile Polio)i, nervoase.*
- **perioada de convalescenta** care consta in refacerea si vindecarea structurilor si functiilor alterate (*restitutio ad integrum*).

Mecanismele de producere ale infectiilor

Initierea unei infectii poate fi rezultatul catorva situatii:

1. **patrunderea** in organismul gazda printr-o *poarta de intrare*;
2. ulterior ***soarta*** *microorganismelor* este ***variabila***:
   a. fie raman cantonate la poarta de intrare, determinand **infectii localizate** (*de exemplu furunculul indus de stafilococii patogeni*),
   b. fie se multiplica la poarta de intrare si elibereaza toxine care actioneaza la distanta pe tesuturi si organe tinta, determinand **toxiinfectii** (*de exemplu difteria*),
   c. cele cu caracter invaziv ajung in sange unde se multiplica determinand **septicemii**, urmate de **localizari secundare** ale infectiei.
3. **eliminarea** microorganismelor se poate face uneori pe o cale ce se identifica cu poarta de intrare sau pe alte cai (*urina, materii fecale…*).

Agentul infectios

Poate actiona prin intermediul ***factorilor de patogenitate***:

- **factorilor de virulenta**
  a. factori de colonizare,
  b. factori care contribuie la multiplicare,
  c. ***factori care interfera cu raspunsul imun***;
- **factori toxigeni** (***toxine***)

Organismul gazda

Isi mobilizeaza **mecanismele de aparare** disponibile:

- ***nespecifice*** (*apararea naturala: barierele cutaneo-mucoase, bariere chimice, barierele biologice prin mecanisme de aparare tisulare*)
- ***specifice*** (*raspuns imun umoral si celular*).

Factorii de patogenitate (*invazivi si toxigeni*)

Bacteriile patogene au capacitatea de *a se multiplica* si *a supravietui* in organismele gazda;

Patogenitatea se refera la **capacitatea unui microorganism de a produce infectie**, iar **virulenta este** o masura a patogenitatii, fiind reprezentata de un *ansamblu de caractere specifice unei bacterii patogene.*

A. Factorii de patogenitate invazivi (*factorii de virulenta*)

Secventele procesului infectios sunt reprezentate de:

- **colonizarea** *epiteliilor* si *mucoaselor* la **poarta de intrare**
    - *aderarea la structurile tinta*
    - *adaptarea* la conditiile oferite de gazda
    - *multiplicarea*
    - *manifestari celulare, tisulare si moleculare – specifice procesului infectios.*
- **patrunderea** in **tesuturi** si de aici in **umori** (*in cazul bacteriilor invazive*).

Poarta de intrare a bacteriilor in organism este variabila:
- ***contact direct*** (*tegumentar, saliva, contact sexual*),
- ***transplacentar***,
- ***transfuzii***,
- ***transplant***,
- ***dializa***,
- ***manopere invazive*** (*chirurgicale, extractii dentare, endoscopii, cateterizare, sondaje, tatuaje, acupunctura, perforarea lobului urechii…*)

Colonizarea depinde de o serie de **factori**:

- existenta unui ***numar critic de bacterii*** la *poarta de intrare*,
- ***depasirea apararii locale*** si ***adaptarea la conditiile*** create de *microbiocenozele locale,*
- ***aderarea*** la receptori celulari specifici,
- ***acomodarea*** la conditiile locale,
- ***multiplicare***.

Aderarea bacteriilor la epitelii se face prin intermediul unor ***structuri specializate*** reprezentate de:

- **adezine bacteriene** – structuri cu rol antigenic:
  - ***fimbrii*** (*pili comuni*):
    - *codificate cromozomial si plasmidic*,
    - apar la *bacteriile **Gram negative***: *Enterobacteriaceae, N. gonorrhoeae, Ps. aeruginosa…*
  - ***fibrile capsulare***:
    - *codificate plasmidic,*
    - exista la bacteriile **Gram pozitive**: *Strp. pyogenes.*
- **receptori celulari specifici** sunt structuri tinta de care se ataseaza bacteriile prin intermediul adezinelor; existenta acestora doar la anumite specii sau doar la nivelul anumitor tipuri de celule explica specificitatea unor infectii:
  - ***specificitatea de specie*** (*N. gonorrhoeae cauzeaza infectii numai la om*),
  - ***specificitate de tesut***.

Factorii de multiplicare

Timpul necesar multiplicarii "*in vivo*" este mai lung decat cel necesar *multiplicarii* "*in vitro*", deoarece in organismul uman bacteriile trebuie sa se adapteze initial la conditiile nou create de gazda si sa depaseasca mecanismele de aparare ale acesteia.

- **adaptarea la conditiile nutritionale ale gazdei** se face prin *mobilizarea mecanismelor* care permit supravietuirea in noile conditii, reprezentate de:
  - *cresterea afinitatii* fata de *gazda* si/sau *tesut*,
  - *activarea sistemelor de captare a oligoelementelor/siderocromii* din mediu,
  - *degradarea enzimatica* a *elementelor din mediu*.
- prezenta unor **factori bacterieni** cunoscuti sub denumirea de **agresine**; acestea sunt reprezentate de *structuri celulare* (*perete celular, capsula*) sau anumite *enzime eliberate de bacterii* (*colagenaze, hialuronidaza, hemolizine*) si utilizeaza mai multe *mecanisme de actiune*:

a. *interfera* cu ***factori umorali bactericizi*** (*lizozim, complement*);
b. *interfera* cu **fagocitoza** la diferite niveluri:
   - *neutropenia* indusa prin *agresiune directa medulara* (*Salmonella typhi*),
   - *efect chemotactic negativ* (*Staf. aureus*, *Mycobacterium tuberculosis*)
   - *rezistenta la **ingestia** fagocitara* (*capsula, structuri proteice de suprafata, enzime extracelulare: lipaze, proteaze, leucocidine*),
   - *rezistenta la **digestia**_fagocitara* (*enzimele nu se descarca in fagozom, rezistenta chimica la actiunea enzimatica, anihilarea sistemului mieloperxidazic permitand bacteriilor sa se multiplice in macrophage, ulterior disemineaza*);
c. **promovarea difuziei bacteriene** prin intermediul unor enzime bacteriene cu:
   - *activitate histolitica*: *hialuronidaza, colagenaze, lecitinaze,*
   - *activarea mecanismelor fibrinolitice*: *streptokinaza, stafilokinaza,*
   - *activitate leucolitica*: *endoleucocitara* (*leucocidine*) si *exoleucocitara*,
   - *activitate* predominent *hemolitica*: *hemolizine*,
   - alte tipuri de activitate: *proteaze, lipaze, nucleaze.*

Penetrarea epiteliilor

Poate fi sau nu blocata, in functie de posibilitatile patogenului de a depasi factorii locali de aparare, ca urmare o tulpina patogena ajunsa la poarta de intrare are mai multe variante de evolutie ulterioara.

Factorii care interfera cu raspunsul imun

In anumite *conditii, bacteriile* pot induce *intarzierea* sau *deprimarea apararii imune*, de exemplu:

- *similitudinea antigenica* intre *bacterie* si *unele componente ale gazdei* (*proteina M streptococica si fibra miocardica*),
- *mascarea temporara a antigenelor bacteriene* (*coagulaza stafilococica*),
- *sinteza de anticorpi specifici* fata de *constituentii bacterieni neesentiali* pentru *patogeneza*,
- ***variatia antigenica*** a structurilor de suprafata face ineficienta actiunea anticorpilor indusi initial (*Staf. aureus, Strp. pyogenes, Borrelia*).

In aceste **situatii raspunsul imun deprimat** favorizeaza:

- *blocarea cooperarii* intre: *limfocitele T/ macrofag /limfocitele B*,
- modificarea sintezei locale de limfokine,

- blocarea anticorpilor circulanti: eliberarea unor antigene solubile de suprafata, precum si eliberarea in umori a toxinelor
- ocolirea actiunii efectorilor imuni la bacteriile cu dezvoltare strict intracelulara sau intraluminala (*Brucella, Listeria* si Mycobacterii)

B. Factorii toxigeni (*toxine bacteriene*)

Toxinele bacteriene sunt *macromolecule complexe lipsite* de *actiune enzimatica*, eliberate de bacterii in cursul multiplicarii in organism (*exceptie sunt toxinele eliberate de stafilococi in alimente, care sunt raspunzatoare de toxiinfectiile alimentare*).

Clasificarea toxinelor se poate face dupa mai multe ***criterii***:

- dupa modalitatea de eliberare in mediu

- **exotoxinele** se elibereaza in mediu *fara liza celulei bacteriene* si
- **endotoxinele** se elibereaza in mediu numai in urma *lizei celulei bacteriene;*

- dupa structura chimica

- natura *proteica* au in general *exotoxinele*,
- natura *lipopolizaharidica* (*LPS*) a *endotoxinelor*;

- dupa mecanismul de actiune

- *legarea de receptori celulari* cu *interferenta sistemelor de transport*,
- *penetrarea in celule fara modificari membranare* cu *afectarea proceselor metabolice;*

Exotoxinele

Dintre cele mai cunoscute, sunt: ***streptolizine, tetanolizine, hemolizine***...

Exotoxinele sunt ***codificate cromozomial*** sau prin ***conversie lizogenica*** **(***prin fagi temperati*)**;**

Avand in vedere **structura proteica, *exotoxinele*:**

- sunt **imunogene** determinand sinteza de ***anticorpi antitoxici*** (*antitoxine*) cu efect *neutralizant*; in laboratoare specializate se pot obtine *seruri specifice* (*de la animale imunizate*) utilizate in *terapia toxinfectiilor* (*difterie, botulism, tetanos...*) cunoscuta ca si **seroterapie;**
- pot fi ***prelucrate*** (*procedeul de formolizare*) pentru ca molecula sa-si piarda toxicitatea, dar sa-si pastreze antigenicitatea; se obtin astfel **anatoxine** utilizate in *vaccinare* (*de*

exemplu ATPA/Anatoxina Tetanica Purificata si Adsorbita, utilizata in preventia tetanosului);
- sunt **termolabile** (*se denatureaza la caldura*);
- au **toxicitate crescuta**.

Componentele functionale ale exotoxinelor, sunt reprezentate de:

- lantul B (*binding*) cu rol de *fixarea pe receptori*; interfera cu mecanismele de transport membranar fara a produce modificari celulare;

- lantul A (*activity*) componenta dotata cu *actiune toxica specifica*; **penetreaza in celula,** fara a produce modificari membranare; *interfera cu procesele metabolice celulare.*

Endotoxinele (*LPS*)

Endotoxinele sunt de natura **lipopolizaharidica** (*LPS*); se gasesc in peretele celular al bacteriilor Gram negative si sunt recunoscute ca si ***antigenul somatic O***.

Ele elibereaza in mediu doar prin liza bacteriilor sau prin extragerea chimica in conditii de laborator.

Dintre ***caracteristicile endotoxinelor***, putem mentiona:

a. sunt **termolabile**,
b. **nu** sunt **imunogene**, deci *nu pot fi neutralizate de catre anticorpi specifici*
c. din LPS **nu** se pot obtine **anatoxine**,
d. au un **determinism cromozomial**,
e. *prin liza masiva a bacteriilor in urma unui tratament bactericid agresiv, se poate elibera in mediu o cantitate mare de endotoxine, responsabila de* **socul endotoxic**.

Din punct de vedere ***structural***, *endotoxina* are mai multe ***componente***:

- **polizaharidul** care este *termostabil*, asigura **specificitatea de tip** (*utilizat in diagnostic serologic*),
- **lipidul A** cu **actiune toxica**, **pirogena**, cu **actiune adjuvanta** pentru apararea nespecifica,
- **fragmentul polipeptidic** care asigura **imunogenicitatea**; fara proprietati toxice,
- **lipidul B** si **polipeptidul** reprezentinta endotoxina termolabila.

Dupa **tesuturile tinta asupra carora actioneaza**, toxinele se pot identifica ca:

- neurotoxinele care actioneaza pe *structuri nervoase*,

- ***enterotoxinele*** ce actioneaza pe *enterocite,*

- ***toxine*** care ***inhiba sinteza proteinelor*** si produc ***alterari celulare*** ulterior cu ***moartea*** acestora.

Neurotoxinele

Sunt toxine de ***natura proteica*** care actioneaza asupra structurilor nervoase. Sunt eliberate de ***bacterii anaerobe sporulate*** din genul ***Clostridium.***

Toxinele eliberate de **Clostridium tetani**

- ***Tetanospasmina***
    - actioneaza pe *receptori gangliozidici* (*neurilema, sinapse*),
    - are ca mecanism de actiune *blocarea inhibitiei sinaptice* (*maduva spinarii, cerebel*),
    - este raspunzatoare de manifestarile clinice specifice din tetanos: *paralizii spastice, convulsii generalizate*.
- ***Tetanolizina***
    - are *efecte hemolitice, cardiotoxice*,
    - *nu* produce *spasticitate*.

Toxinele eliberate de **Clostridium botulinum**

- doar 4 din cele 6 *tipuri antigenice* ale toxinei sunt dotate cu *activitate toxica* pentru om (*A, B, E, F*),
- actioneaza *pe receptori gangliozidici* (*placa neuromotorie*) *(fig. 23)*,
- au ca *mecanism de actiune blocarea eliberarii de acetilcolina*,
- este raspunzatoare de *manifestarile clinice* din *botulism*: *pareza flasca, paralizii musculare*.



Fig. 23– Efectul toxinei botulinice

Enterotoxinele

- sunt **toxine** care actioneaza asupra **structurilor intestinale,**
- pot fi **eliberate de bacterii strict patogene** sau doar de **anumite tulpini bacteriene**;

Prototipul enterotoxinei este cea sintetizata de ***Vibrio cholerae*** care:

- actioneaza *pe receptorii gangliozidici* de pe membrana enterocitelor (*marginea "in perie"*)
- are mecanismul de actiune reprezentat de *activarea adenilat-ciclazei*; **efectul** consta in **cresterea concentratiei cAMP,** care in final determina *iesirea apei si electrolitilor din celula*, ceea ce antreneaza *aparitia scaunelor diareice*.

Enterotoxina eliberata de tulpinile de ***Shigella dysenteriae,*** are urmatoarele *mecanisme de actiune*:

- produce *leziuni locale ale mucoasei intestinale* ce duc la aparitia de *scaune muco-sanguinolente*,
- actioneaza la distanta asupra *SNC*, producand hemoragii, edeme, (*simptomatologie similara cu cea din botulism*).

Enterotoxina eliberata in timpul sporularii de ***Clostridium perfringens*** – agentul etiologic al ***gangrenei gazoase.***

Enterotoxina eliberata de tulpinile de ***E. coli enterotoxigen***, care:

- are mecanism de actiune asemanator cu cel al enterotoxinei holerice,

Enterotoxina eliberata de tulpinile de ***stafilococi enterotoxigeni*** (*5 serotipuri*) ce agresioneaza local mucoasa intestinala.

Toxine care inhiba sinteza proteinelor

Toxina botulinica:

- este eliberata de ***tulpini lizogenizate***,
- are ca si ***structuri tinta***: *cord, sistem nervos, ficat, rinichi* – la nivelul carora induc leziuni,
- **mecanismul de actiune** este reprezentat de inactivarea fragmentul de elongatie, blocandu-se astfel sintezele proteice.

Toxina eliberata de ***Pseudomonas aeruginosa*** are mecanism asemanator cu cel al toxinei botulinice.

Alte **toxine cu actiune patogena** sunt:

Toxina epidermolitica/exfoliativa

- este *eliberata* de ***Stafilococii din grupul II fagic***
- *structurile tinta* sunt reprezentate de *desmozomii stratului cornos din tegument,*
- *efecte* induse sunt ***exfolierea*** cu ***necroza tegumentara***.

Eritrotoxina

- este *eliberata* de ***Strp. pyogenes*** (*tipurile antigenice A, B, C*),
- *structurile tinta* sunt ***capilare sanguine***,
- *efecte* induse sunt *eruptia din scarlatina* (*streptococ grupul A, lizogenizat*).

Complexul exotoxinic eliberat de **Bacillus anthracis** este raspunzator de *efectul edematogen* si *potential letal*.

Complexul exotoxinic eliberat de **Yersinia pestis** este compus din *factori necrozanti, letali* si *enzimatici: coagulaza* si *fibrinolizina*, acest complex fiind raspunzator de aparitia ***coagularii intravasculare diseminate*** (***CID***).

REZISTENTA NATURALA

Rezistenta naturala a organismului este definita prin *totalitatea mecanismelor nespecifice* mobilizate de catre macroorganism in incercarea de a se apara impotriva unor microorganisme care ar putea determina starea de boala.

Apararea nespecifica este asigurata de *factori anatomici, metabolici, serici* si *celulari* care *actioneaza neselectiv*, indiferent de natura microorganismului agresor.

Rezistenta naturala are un **determinism genetic**; *factorii genetici* fiind responsabili de:

- ***caracterul de specie*** al rezistentei naturale (*de exemplu boli specifice omului - antroponoze: gonoreea, sifilisul; boli specifice animalelor - zoonoze; infectiile ce apar atat la om cat si la animale se numesc antropozoonoze: bruceloza, febra Q*).

- ***diferentele individuale*** sunt determinate si de alti *factori: varsta, stress, metabolism intermediar, influente ale mediului inconjurator…*

Rezistenta naturala se realizeaza prin **factori nespecifici**, indiferent de specie, reprezentati de:

- ***barierele cutaneo- mucoase***,
- ***barierele chimice***,
- ***microbiocenoze***,
- ***factori umorali nespecifici***,
- ***factori celulari*** si ***tisulari***;

Barierele cutanate si mucoase sunt reprezentate de:

- ***integritatea anatomica a tegumentelor*** (*existenta leziunilor produse prin taieturi, arsuri, intepaturi, zdrobiri… creeaza porti de intrare spre tesuturile profunde*),
- ***integritatea anatomica a mucoaselor*** este dublata in protectie, de *secretia de IgA* locale (*cu rol de neutralizarea sau blocarea microorganismelor la poarta de intrare*); mucusul si celulele ciliate prezente in anumite zone asigura eliminarea mecanica a microparticulelor (*inclusiv a microorganismelor*);

Barierele chimice sunt constituite din:

- ***secretiile acide*** *(pH 3- 5)* ale glandelor sebacee si sudoripare care au un *efect bactericid;*
- ***lizozimul*** este un factor *bactericid* (*din saliva, lacrimi, secretii nazale, ser sanguin, lichid peritoneal, citoplasma leucocitara*) care actioneaza nespecific asupra peretelui celular bacterian;
- ***spermina*** care o poliamina cu *activitate bacteriostatica*;

Microbiocenozele

Sunt amestecuri de populatii bacteriene comensale care colonizeaza diferite zone din organism; acestea constituie **microbiocenoze caracteristice** (*de exemplu microbiocenoza cavitatii bucale, tegumentara, digestiva, conjunctivala, vaginala*) in timp ce alte zone raman necolonizate (*in conditii fiziologice fiind sterile*): *cai urinare superioare, sange, sistem meningeal..*

Participa la *apararea organismului* mai ales prin ***antagonism bacterian***;

Populatiile bacteriene care intra in componenta microbiocenozelor se gasesc intr-o stare de echilibru (***eubioza***); ele *ocupa receptorii* de pe suprafatta celulelor epiteliale si astfel este *impiedicata aderarea* si *multiplicarea bacteriilor patogene*;

In anumite situatii se rupe echilibrul si apare starea de ***disbioza**,* astfel incat este posibila *inlocuirea florei normale cu flora patogena* (*de exemplu candidoza bucala si vaginala dupa tratament local sau general cu antibiotice*);

Unele specii au un potential patogenic scazut si pot declansa in anumite conditii infectii; aceste bacterii se incadreaza in grupul *bacteriilor conditionat patogene.*

Unele exemple de actiuni benefice produse de flora comensala, sunt:

- *Propionibacterium acnes (fig. 24)* produce lipide cu actiune antimicrobiana care limiteaza popularea tegumentelor cu stafilococi si streptococi patogeni;

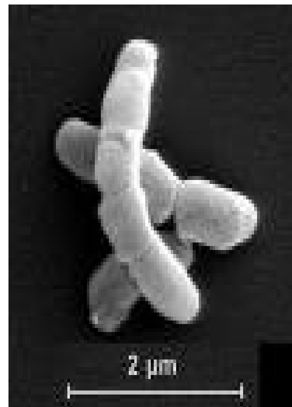


Fig. 24 - Propionibacterium acnes (microscopie electronica)

- *Streptococcus viridans* inhiba dezvoltarea lui *Streptococcus pneumoniae* (*pneumococilor*) la nivelul cailor respiratorii superioare*,* iar *Streptococcus salivarius* din *cavitatea bucala* elibereaza H_2O_2 cu *efect bactericid inhiband* in acelasi timp si *flora strict anaeroba*.
-



Fig.25 – Streptococcus salivarius (microscopie electronica)

Factorii umorali

Sunt prezenti in serul sanguin si in lichidele biologice si actioneaza asupra bacteriilor, independent de anticorpi; sunt reprezentati de ***β lizine*** (*care actioneaza pe bacterii Gram pozitive*), ***leucine*** (*eliberate din granulatiile azurofile in urma dezintegrarii PMN*) si ***sistemul complement.***

Sistemul complement este reprezentat de un *complex de 18 proteine* aflate in ser in stare inactiva: de la C_1 pana la C_9 (*unde* C_1 *are 3 componente* C_1 *q, r, s*), *properdina*, *factorul B* si *factorul D (fig. 26)*.

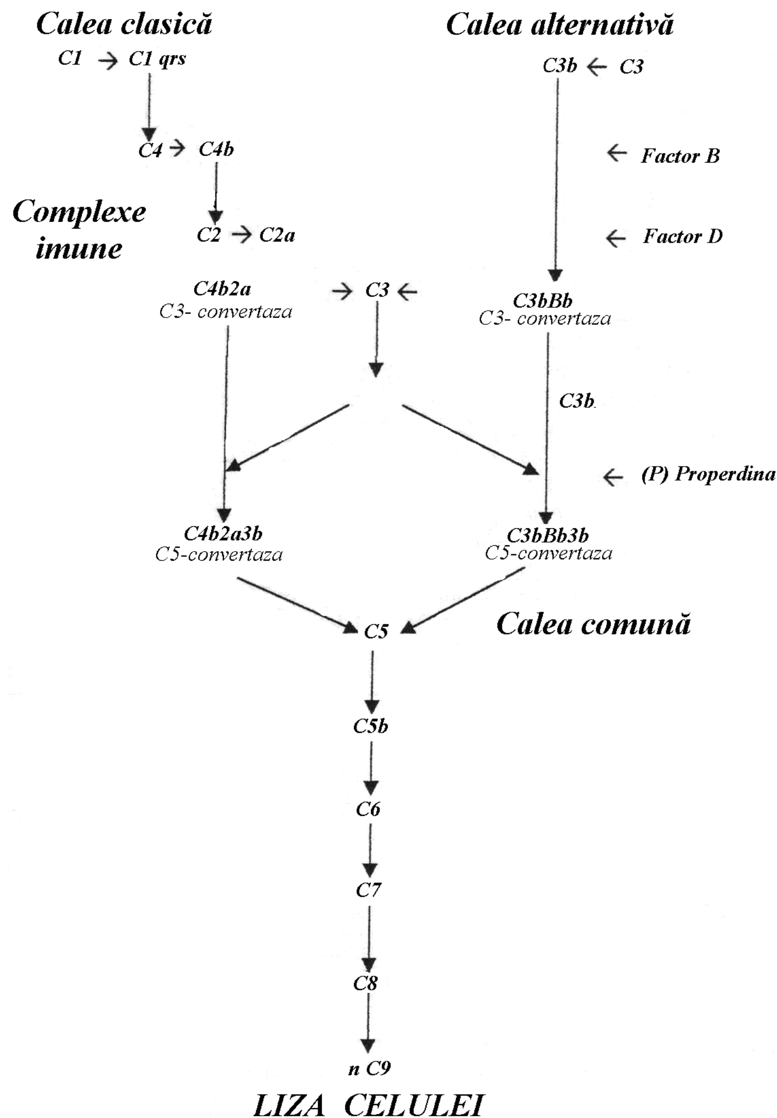


Fig. 26- Reprezentare schematica a celor 2 cai de activare ale complementului

Activarea sistemului complementului se poate face in doua moduri:

- pe ***cale clasica***- in urma formarii *complexelor antigen- anticorp*;
- pe ***cale alternativa*** (*properdinica*)- initiata de diferiti produsi bacterieni.

Ambele cai duc la formarea ***complexelor*** C_{6789} (*MAC - complex membranar de atac*) la suprafata membranelor celulare pe care s-au activat; in grosimea membranei apar pori prin care intra apa si electrolitii din mediul extern si in final celula se sparge.

Daca sistemul complementul *se activeaza pe suprafata celulelor bacteriene efectul este benefic* (*rezultatul este eliminarea agentului etiologic din organism*); in situatii particulare, complementul se poate activa *pe celule proprii organismului* (*dar modificate astfel incat sa nu mai fie recunoscute ca fiind proprii*) si se declanseaza efecte nefavorabile caracteristice *bolilor autoimune*.

Interferonii (IFN)

Sunt substante produse de *celulele infectate viral* sau *bacterian,* de *leucocite* sau alte *celule nelimfoide*. Actioneaza *nespecific* prin *activarea macrofagelor* sau prin *modularea sintezei de anticorpi* (*stimulare sau inhibare*).

Factorii celulari si tisulari

Sunt reprezentati de procesul de fagocitoza. La fagocitoza participa acele celule care sunt capabile sa recunoasca, saa inglobeze si apoi sa distruga microorganismele inglobate.

Celulele implicate in fagocitoza sunt reprezentate de: *PMN, monocite sanguine*, *macrofage tisulare (alveolare, hepatice - celulele Kupfer, sinusurile splenice, limfoganglioni etc).*

Etapele fagocitozei:

- ***chemotaxia*** - se bazeaza pe directionarea fagocitului spre microorganismul, ca urmare a eliberarii de catre acesta a unor substante cu efect chemotactic (*polizaharide, fractiuni ale complementului…*).
- ***opsonizarea*** reprezinta imbracarea microorganismelor cu fractiuni ale complementului sau cu anticorpi specifici;
- ***inglobarea*** prin emiterea unor pseudopode si inglobarea microorganismului intr-o vacuola (*fagozom*); prin unirea acestuia cu lizozomii, rezulta fagolizozomii in interiorul lor se descarca enzimele lizozomale cu rol in digestia intracelulara;
- ***digestia intracelulara*** poate avea loc prin *mecanisme oxigen - dependente* sau *oxigen-independente.*

Exista *bacterii care se pot dezvolta in interiorul unor celule si nu sunt afectate de procesul fagocitozei (Mycobacterium, Chlamydia, Mycoplasma, Ricketsii); acestea vor fi digerate doar prin activarea mecanismelor oxigen- dependente.*

Procesul inflamator

In urma degranularii mastocitare se elibereaza mediatorii proinflamatori care induc modificarile specifice, dupa cum urmeaza:

- cresterea permeabilitattii vasculare cu extravazarea unor substante in spatiul periplasmatic,
- cresterea agregarii plachetare,
- migrarea leucocitelor in tesuturile infectate,
- declansarea **sindromului de faza acuta** caracterizat prin cresterea VSH-ului, fibrinogenului, proteinei C reactive si a titrului complementului, concomitent cu cresterea procentuala a PMN in sange.

Semnele celsiene caracteristice unei inflamatii sunt:

- *Rubo*r - eritemul zonei datorat vasodilatatiei locale,
- *Calor* - cresterea temperaturii zonei afectate,
- *Dolor -* durerea declansata de prinderea filetelor nervoase senzitive in zona de edem,
- *Tumor* reprezinta edemul zonal datorat extravazarii lichidelor in spatiul periplasmatic si
- *Functiolaisa* - impotenta functionala.

NOTIUNI DE IMUNOLOGIE

Notiunea de **imunitate** a fost initial folosita pentru a desemna starea de protectie a unui organism dupa ce a trecut printr-o anumita boala infectioasa.

Raspunsul imun este reprezentat de un lant de procese, declansat de prezenta unei **structuri straine** organismului, procese care au ca punct final distrugerea structurilor straine (***non-self***). Aceste structuri non-self pot fi reprezentate de substante sau particule straine organismului (*bacterii, paraziti, grefe, transplant…*) sau structuri proprii care au suferit modificari fenotipice pe care organismul nu le mai recunoaste ca fiind proprii (*celule infectate cu virusuri, celule imbatranite, celule cu functie alterata, celule cu potential de malignitate*). Structurile proprii modificate, exprima la suprafata noi structuri antigenice pe care organismul nu mai le recunoaste ca fiind proprii.

Tipuri de imunitate

Dupa modalitatea de **castigare a imunitatii,** aceasta poate fi:

- **activa** cand efectorii imunitatii sunt stimulati de prezenta unui antigen. Se considera o *imunitate activa:*

  naturala daca organismul a trecut printr-o *infectie* si

  artificiala daca organismul a fost *vaccinat* (*vaccinul se obtine prin omorarea unei tulpini bacteriene sau inactivarea unei toxine bacteriene, dar cu pastrarea antigenicitatii acestora*)

pasiva atunci cand anticorpii se formeaza intr-un organism si se transfera intr-un alt organism. Imunitatea pasiva poate fi:

- ***naturala*** daca anticorpii se transfera de la mama la fat *transplacentar (IgG)*, sau la sugar in primele 6 luni prin intermediul *laptelui matern* (*colostrul contine anticorpi materni tip IgA*).
- acest tip de *imunitate* poate fi castigat si prin *administrarea de seruri imune* (*amestecuri de de seruri obtinute de la mai multi subiecti: γ-globuline sau seruri monospecifice obtinute de la animale - mai ales de la cal*).

Dupa **tipul celulelor efectoare,** imunitatea poate fi:

I. imunitate mediata umoral (***IMU***) in care celulele implicate sunt **limfocitele B** (***LB***) care se activeaza in prezenta *antigenului* ***(Ag)*** *specific* si se transforma in **plasmocit secretant de anticorpi specifici** (**Ac**).

II. imunitatea mediata celular (***IMC***) in care sunt implicate **limfocitele T** (***LT***) cu **subpopulatiile** sale, precum si **limfokinele** (*mediatori care asigura cooperarea intre diferitele clase de LT, precum si intre LT si celulele sistemului mononuclear- macrofagic*).

Din punctul de vedere al **timpului scurs** de la ***contactul cu Ag*** pana la declansarea raspunsului imun (***RI***), acesta poate fi identificat ca si:

Raspuns imun primar cand reactia se declanseaza la 4-6 zile de la primul contact cu antigenul si consta in sinteza de anticorpi de tip **IgM** cu o durata de viata scurta.

Raspunsul imun secundar care apare la *organisme deja sensibilizate* la un *Ag*; secventele sunt similare cu cele din raspunsul imun primar, dar se produc cu o viteza mult mai mare (*LB de memorie se activeaza si sintetizeaza o cantitate mare de* **IgG** *care au o viata lunga, de ordinul anilor*).

Componentele structurale ale sistemului imun (SI)

SI este constituit din **organe**, **celule** (*majoritatea celulelor care participa la RI sunt limfocite*) si **componente subcelulare** (*mediatori solubili*) *(fig. 27)*.

Organele limfoide sunt de *doua* tipuri:

1. Organe limfoide primare: reprezentate de **timus** (*organul unde sunt instruiti precursorii limfocitari dupa ce au migrat din maduva hematoformatoare, cu formare de* ***limfocite T - timodependente***) si **maduva hematoformatoare** (*echivalenta a bursei lui Fabricius de la pasari, unde se instruiesc* ***limfocitele B - bursodependente***).

2. Organe limfoide secundare sunt reprezentate de *organele periferice* in care migreaza *limfocitele T* si *B* dupa ce au fost instruite in organele limfoide primare: *limfoganglioni, splina, apendice, amigdale, placi Peyer…*; la acest nivel are loc orientarea lor ulterioara (*dupa contactul cu structurile antigenice*) finalizata cu expansiunea clonala.

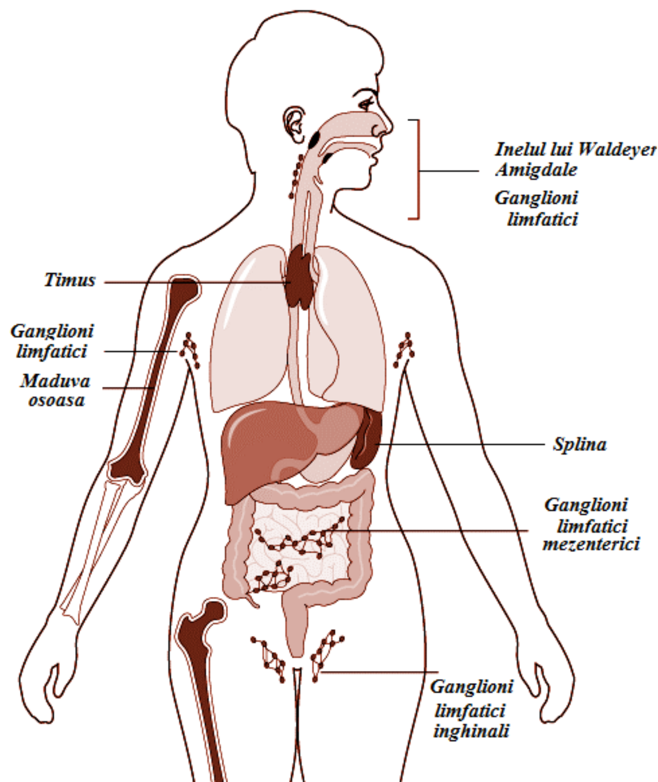


Fig. 27 – Organele limfoide primare si secundare

Celulele Sistemului Imun

Orice individ are un rezervor imens de limfocite, fiecare limfocit insa poate raspunde doar la un singur tip de stimul antigenic. In momentul in care organismul intra in contact cu un antigen, se va **selectiona** un singur limfocit si anume acela care are o *structura de suprafata* (*receptor*) *complementara* ca *structura* fata de antigenul ce a indus activarea lui; ulterior, se declanseza proliferarea sa, iar in final va rezulta o **clona de limfocite** sensibilizate fata de acel Ag (*aceasta succesiune de evenimente este cunoscuta ca si* ***teoria selectiei clonale***) iar clona va sintetiza Ac specifici.

Exista mai multe tipuri celulare *(fig. 28)*:

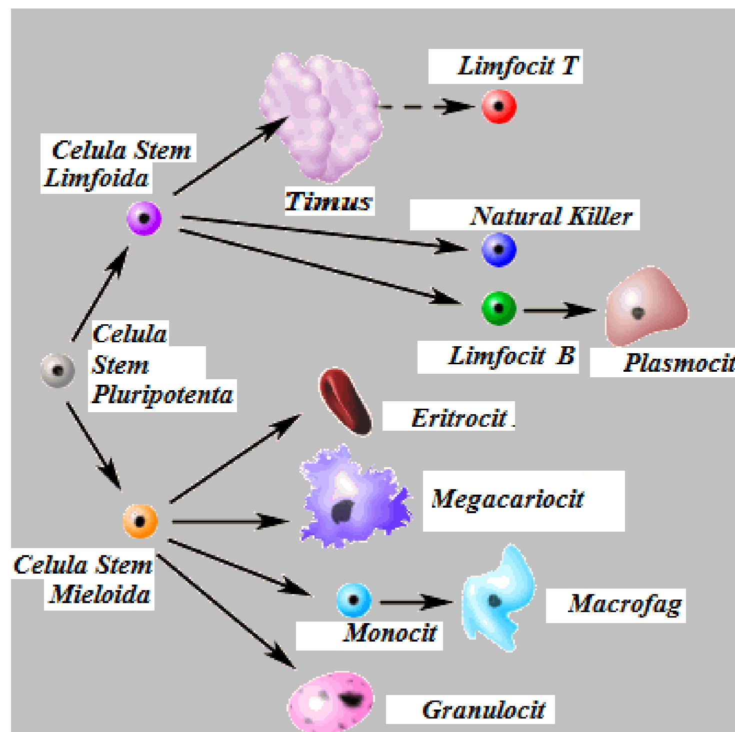


Fig.28 – Celulele sistemului imun

1. **Limfocitele B** (**LB**) **-** care dupa activare se transforma *i*n plasmocite si secreta Ac specifici; exista *5 categorii* pentru fiecare tip de Ig (*A,G, M, D, E*),
2. **Limfocitele T** (**LT**) **-** cu mai multe *subclase*: ***LTh****-helper****,*** ***LTc****-citotoxic,* ***LTs****-supresor,* ***LTd****-amplificator,*
3. **K** (**celule killer**) care sunt celule „nule” neavand markeri de suprafata nici pentru LT, nici pentru LB; **celulele K** intervin in reactii de **Citotoxicitate Celulara mediata de Ac** (**ADCC**) si prezinta la suprafata receptori (**R**) doar pentru fragmentul **Fc** al **IgG** si **M**,
4. **NK** (**celule Natural Killer**) sunt celule cu activitate citotoxica spontana,

5. **Macrofagele** (**Mcf**) sunt celule ce deriva din monocitele circulante sanguine si sunt fixate in diferite tesuturi; actioneaza:
   - **nespecific** (*prin inglobarea si degradarea antigenului*),
   - **specific** prin prelucrarea antigenului dupa inglobare si transformarea in particule antigenice; acestea vor fi exprimate la suprafata *Mcf* sub forma de *superantigen* si va fi recunoscut de catre celulele *SI* in prezenta unui marker specific pentru *celulele prezentatoare de Ag*: **MHC de tip II** (***Complex Major de Histocompatibilitate***).

Mediatori solubili ai RI

Sunt reprezentati de mai multe clase de:

1. **Imunoglobulinele (Ig)** reprezentate de *anticorpi specifici* secretati de *plasmocite* in urma *activarii LB* de catre *Ag*;
2. **Interleukine** (**IL**) care sunt mediatori eliberati de catre celulele *SI* cu rol in modularea raspunsului diferitelor clase de limfocite;
3. **Sistemul complement (C')**
   - care actioneaza **nespecific** producand **liza celulara** (*practic a sistemului Ag-Ac*), prin fixare pe capatul liber *Fc* al *Ig*,
   - unele componente activate ale C' au un **efect proinflamator**, favorizand diapedeza PMN si monocitelor in tesutul agresionat de Ag,
   - prin **opsonizarea** Ag favorizeaza inglobarea Ag in cursul **fagocitozei.**
4. **Interferonii α, β, γ (IFN)** cu rol in medierea RI;
5. Alti mediatori **sunt: TNF** (*factor de necroza a tumorilor*), ***factori de crestere, factori de stimulare a coloniilor de granulocite***….

ANTIGENUL

Este definit ca orice *substanta* sau *particula vie* (*de exemplu bacterie*) sau *inerta* (*corp strain*) care este recunoscuta ca ***non-self*** si care este capabila sa declanseze un RI prin sinteza de Ac specifici.

Gruparile determinante fata de care se formeaza Ac poarta denumirea de **epitopi,** iar *locusul de cuplare al Ac specifici* cu *epitopii* poarta denumirea de **paratop.**

Exista mai multe tipuri de antigene:

1. *Antigenele/ substantele straine* care pot declansa *de la inceput un RI* se definesc ca si **imunogeni**; acestea sunt de cele mai multe ori o substanta de *natura proteica cu greutate mare*, mai rar de natura lipidica sau polizaharidica.

Un *antigen devine imunogen* doar in anumite *conditii*, cand:

- este recunoscut ca non-self,
- are la suprafata **grupari determinante** care imprima **imunogenicitatea** si **specificitatea** (*capacitatea unei grupari determinante de a produce Ac specifici sau de a sensibiliza celulele cu rol in RI*).

2. *Substantele proteice* cu *molecula mica* poarta denumirea de **haptene** (*medicamente, substante lipidice, polen, praf de casa..).* Se caracterizeaza prin faptul ca *nu* pot declansa *un RI* in momentul in care intra in organism; pentru a declansa un RI trebuie sa se fixeze pe un suport proteic numit **carrier**; la *contactul ulterior al haptenei* cu organismul, RI se poate instala rapid fara a mai fi nevoie de cuplarea cu carrier-ul.

Complexele haptena - Ac antihaptena apar mai ales in *reactiile de hipersensibilizare de tip I* (*HS tip I*) la compusi fata de care nu se declanseaza in mod normal un RI (*medicamente, polen*).

3. In **situatii rare**, unele Ag pot provoca sinteza unor Ac care se pot cupla cu alti determinanti antigenici decat cei fata de care s-au format (**Ag Forsmann** sau **Ag cross-reactive**) si vor determina **cross-reactii** sau reactii incrucisate.

Acest fenomen se produce datorita similitudinii structurale ale unor fractiuni sau a determinantilor antigenici, cu determinantii antigenici de pe alte macromolecule (*vezi complicatiile la distanta, postreptococice, produse de titrurile mari de ASLO/Ac anti Strepto Llizina"O"*); reactia are loc datorita asemanarilor dintre *ASO-streptolizina O specifica streptococului β hemolitic de grup A* cu structuri de suprafata prezente la nivelul endocardului, membranei sinoviale si a membranei glomerulare).

Concluzia este ca specificitatea Ag nu este determinata de molecula intreaga, ci de determinantii sai antigenici.

4. Exista **Ag specifice** fiecarei **specii**; se pot distinge:

a. heteroAg care sunt prezente la toti indivizii unei specii,

b. allo - Ag care *sunt specifice pentru fiecare individ din cadrul unei specii* (*au determinism genetic*);

- sunt prezente la suprafata tuturor celulelor din organism si nu difera de la un organ la altul;
- alloAg difera in functie de linia genetica din care provin diferiti indivizi.

Complexul major de histocompatibilitate MHC prezent la suprafata tuturor celulelor din organism permite recunoasterea de catre *SI* a *selfului*.

Exista 2 clase:

- **MHC de tip I,** prezente la suprafata tuturor celulelor,
- **MHC de tip II** sunt prezente doar la suprafata celulelor prezentatoare de Ag (*Mo, Mcf, PMN*).

Limfocitul TH va recunoaste *superantigenul* doar atunci cand este prezentat alaturi de *MHC tip II*.

Un tip special de *Allo-Ag* este reprezentat de **sistemul HLA** (**Human Leucocyte Antigen**) care reprezinta *Ag de histocompatibilitate* care are un *determinism genetic*; stabilirea *HL*A permite aprecierea *compatibilitatii* intre donorul si potentialul *acceptor de grefa* sau *transplant*.

5. Exista **Ag specifice** pentru anumite **organe** si **tesuturi**. La suprafata unor celule exista *markeri celulari* care permit identificarea si chiar numararea lor in situatii particulare (*de exemplu incadrarea limfocitelor in tipuri si subtipuri*).

Doua organe diferite pot avea atat **Ag comune**, cat si **Ag organospecifice**; de exemplu Ag sechestrate in tesuturi si organe (*SNC, ochi, testicul, tiroida*) in *conditii fiziologice nu* vin in contact cu sistemul imun in cursul *maturarii imunologice*; daca ulterior scapa accidental si vin in contact cu SI propriu, vor fi recunoscute ca *non-self* si vor declansa RI (*de tip autoimun*).

6. In situatii particulare (*fie in urma unor cross-reactii, fie ca urmare a instalarii unor anomalii de functionare a SI*) *Ag self* (*structuri proprii*) pot deveni **autoAg** si pot declansa RI.

7. Unele **tumori** pot dezvolta **Ag specifice** (**CA 15-5**, **CA 19-9**) sau comune mai multor tipuri de tumori (**AFP**, **CEA**); aparitia acestor Ag va declansa RI care va incerca *sa stopeze in prima faza evolutia expansiunii tumorale*. Prin dozarea Ag tumorale (*markeri tumorali*) se poate pune un *diagnostic corect* (*pozitiv sau diagnostic diferential*) si se poate *monitoriza evolutia post-terapeutica* a pacientului.

IMUNOGLOBULINELE (Anticorpii specifici)

Sunt reprezentate de globuline serice de natura glicoproteica, care migreaza in regiunea electroforetica γ.

Exista 5 clase de *Ig: G, A, M, D,* si *E* care au structura chimica si determinanti Ag comuni, dar cu functii diferite.

Au abilitatea de a recunoaste Ag fata de care s-au format, prin intermediul situsului de combinare (*paratop*), legandu-se specific de acesta (*epitop*); in urma combinarii, molecula de Ac sufera modificari conformationale cu rol in fixarea si activarea complementului.

Din punct de vedere *structural*, fiecare molecula de Ig *(fig. 29)* este alcatuita din:

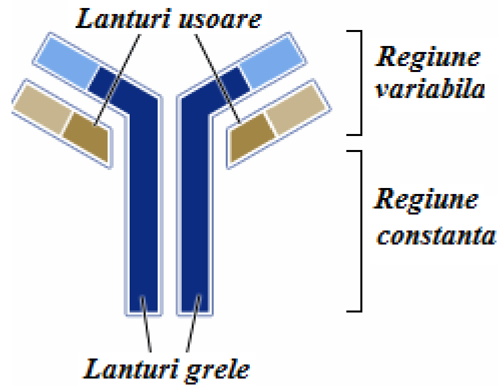


Fig 29 - Structura anticorpului

- 4 lanturi polipeptidice identice 2 cate 2, legate prin punti disulfidice:

- 2 lanturi grele (***H**- heavy de 5 tipuri: α, γ, δ, ε, μ - imprima si tipul clasei de Ig: A, G, D, E, M*) si

- 2 lanturi usoare (***L**-low de 2 tipuri: K si λ*);

- fiecare lant prezinta o portiune **variabila „V”** si una **constanta „C”**.

- portiunile **V** (*VH si VL*) cuprind aminoacizi aranjati in secvente specifice pentru fiecare individ si formeaza situsul de combinare al Ig cu Ag.

Din punct de vedere *functional*, fiecare molecula de Ig are 2 fragmente: **Fab** (*Antigen binding fragment*) si **Fc** (*Crystalisable fragment*):

- prin **Fab** se realizeaza cuplarea de Ag; combinarea Ac - Ag este complementara, pe baza combinatiei unice de AA din portiunea *Fab* (*proprie oricarui individ*),
- pe **Fc** *se ataseaza C'* dupa formarea complexelor Ag- Ac cu declansarea *activarii sale in cascada si liza Ag,*
- **Fc** se poate atasa la suprafata celulelor care poseda **FcR** (*celulele imunocompetente*),

-regiunea balama este situata *la limita celor doua fragmente* si confera portiunii superioare a *Fab* abilitatea de miscare in timpul combinarii sale cu Ag, influentand **afinitatea** sa fata de Ag.

Clasele de Ig si functiile lor

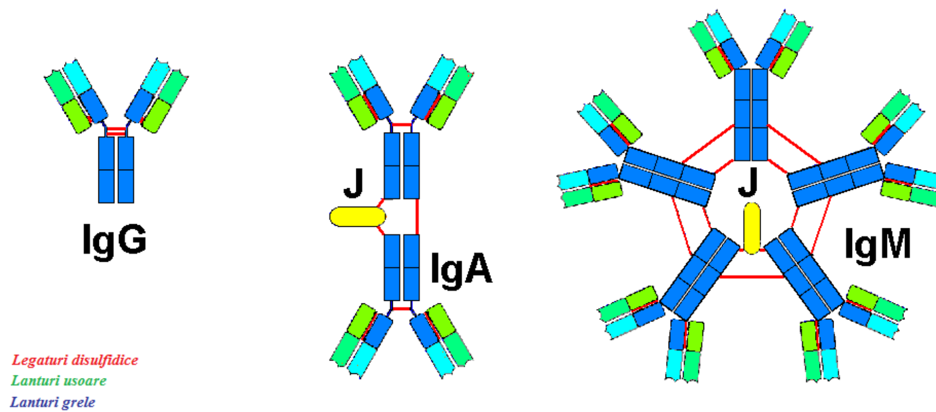


Fig. 30– Structura imunoglobulinelor G, A si M

IgG *(fig. 30)*

- reprezinta 70-80% din totalul Ig serice;
- exista 4 clase *IgG: IgG1, IgG2, IgG3* si *IgG4*;
- sunt singurele Ig care traverseaza placenta, asigurand protectia nou-nascutului in primele luni de la nastere (*imunitate naturala pasiva*);
- pot activa sistemul C' pe cale clasica;
- se sintetizeaza in cursul *RI secundar*;
- au specific tipul **γ** al lantul greu.

IgA

- reprezinta aproximativ 15% din totalul Ig serice;
- sunt prezente in secretiile mucoase (*respiratorii, digestive, urinare, genitale, lacrimi, saliva, lapte matern*) sub forma dimerica de *IgAs* (*doua molecule identice legate printr-o piesa secretorie „J" care inhiba atasarea microorganismelor de suprafata mucoaselor si neutralizeaza virusurile*),
- au lantul greu de tip **α**.

IgM

- reprezinta aproximativ 7% din totalul Ig serice;
- au o structura pentamerica (*5 molecule sunt legate de o piesa intermediara*);
- avand greutatea moleculara foarte mare nu strabat placenta;
- se sintetizeaza in cursul *RI primar*;

lantul greu este de tip **μ**.

IgE

- se gasesc in cantitati foarte mici in ser (*reagine*);
- mediaza reactiile alergice; sunt singurele *Ig citofile* avad receptori pentru *Fcε pe suprafata eozinofilelor, bazofilelor* si *mastocitelor*; prin legarea de celule se produce degranularea lor cu eliberarea de substante biologic active care vor produce **fenomenele alergice** locale de *vasodilatatie, bronhoconstrictie, exudatie, hipersecretie de mucus;*
- au lantul greu de tip **ε**.

BACTERIOLOGIE SPECIALA

1. COCII GRAM POZITIVI

Sunt bacteriile cu **forma sferica** colorate in **violet** in coloratia Gram. Reprezentatii sunt bacterii ce apartin Genurilor **Stapylococcus** si **Streptococcus** *(fig. 31)*.

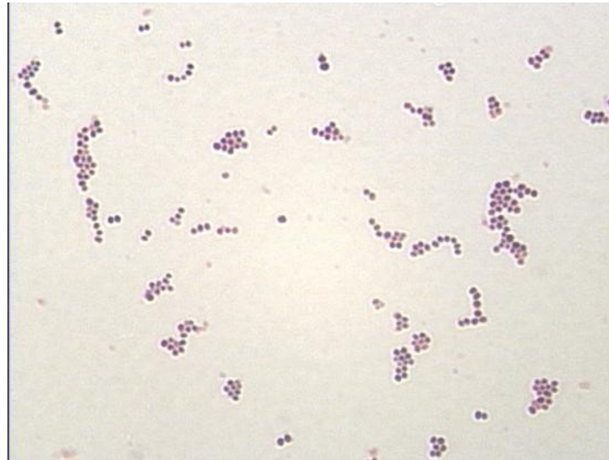


Fig.31 – Coci Gram pozitivi

1.1 STAFILOCOCII

- apartin *Familiei Micrococcaceae*, *Genul Staphylococcus*
- Sunt coci **Gram pozitivi**, asezati in frotiu in gramezi sau **ciorchine** (*de unde deriva si denumirea din limba greaca: staphylos*)
- majoritatea sunt **aerob-anaerob facultativi**
- sunt **imobile**, **nesporulate**; numai **tulpinile foarte tinere** pot prezenta **capsula.**
- **Speciile implicate in patologia umana se identifica ca si:**
    - **Nepatogene: St. epidermidis**, **St. saprophyticus** (*care pot deveni patogene in conditii speciale: in cursul manoperelor invazive: cateterisme, chirurgie stomatologica etc*)
    - **Patogene: St. aureus coagulazo pozitiv** *(fig. 32)*.

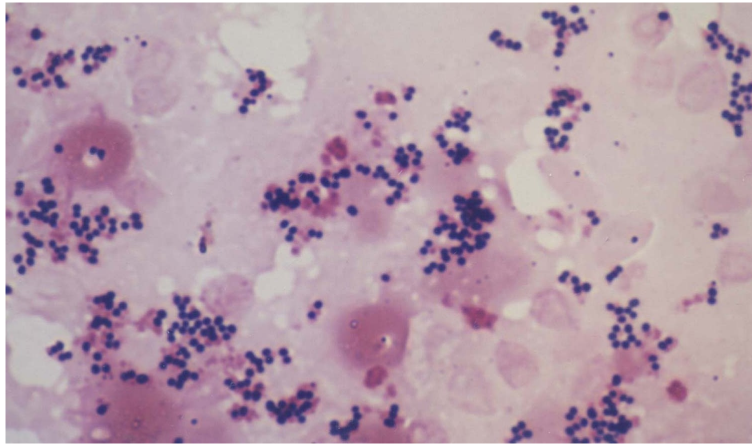


Fig. 32– Staphylococcus aureus (col. Gram)

Proprietati metabolice

- sunt **bacterii nepretentioase** (*persista timp indelungat in mediul extern si sunt usor cultivabile*),
- au un timp scurt de generatie (*se dezvolta rapid*),
- sunt *sensibile la bacteriofagi* (*pe baza acestei proprietati s-au identificat 4 tipuri antigenice distincte*),
- sunt **bacterii halotolerante** avand capacitatea de a se dezvolta la concentratii crescute ale *NaCl* (*pana la 10%*),
  - aceasta proprietate este importanta si explica supravietuirea stafilococilor in alimentele conservate in sare; aceasta proprietate este utila pentru izolarea si cultivarea stafilococilor, prin utilizarea *mediului Chapmann* (*hiperclorurat*) ca si *mediu selectiv* pentru stafilococi (*permite dezvoltarea preferentiala a stafilococilor din produsele biologice pluricontaminate, prin inhibarea cresterii altor specii bacteriene*).

Caractere de cultura

- pe **medii lichide**, stafilococii tulbura uniform aceste medii,
- pe **medii solide** stafilococii dezvolta colonii circulare cu diametrul de **1-3 mm**, bombate, **opac**e, cu aspect cremos, **pigmentate** (***auriu*** *- St. auriu, galben - St. citrin,* ***alb -*** *St. albus*) *(fig. 33)*.



Fig. 33 - Colonii de Staphylococcus epidermidis (pe geloza-sange)

Factorii de patogenitate

Tulpinile de Stafilococi au un **potential ridicat de adaptare la diferite conditii de mediu** si o capacitate crescuta **de biosinteza** de **factori enzimatici si toxici:**

- **Enzimele extracelulare** sunt reprezentate de**:**
  - **hialuronidaza** care descompune *acidul hialuronic* din substanta fundamental, favorizand difuzarea stafilococilor in tesuturi,
  - **coagulaza** induce formarea coagului de fibrina in jurul celulelor bacteriene secretante; se realizeaza astfel "**protectia bacteriei"** fata de **factorii bacteriolitici** locali si fata de **fagocitoza**; este sintetizata de toate tulpinile de *stafilococ aureus*,
  - **stafilokinaza** (*fibrinolizina stafilococica*) permite liza coagulului de fibrina si **progresia** stafilococilor din zona exudatului inflamator in tesuturile sanatoase din jur,
  - **lipazele** actioneaza asupra lipidelor plasmatice si asupra grasimilor de la suprafata tegumentelor (*cu tropism fata de zonele in care sunt mai active glandele sebacee*),
  - **nucleazele** (*ADN-aze*) sintetizate de *tulpinile coagulazo- pozitive*.

- **Toxinele stafilococice** sunt de natura proteica si reprezinta factori majori de patogenitate; cele mai importante sunt:
  - **hemolizinele** cu tripla actiune (***hemolitica***, ***dermonecrotica*** si ***letala***) ; au fost identificate 4 tipuri:

    α cu actiune citolitica pe macrofage, trombocite si hematii (*induc hemoliza completa de tip cald*)

    β cu actiune incompleta pe hematiile de oaie (*hemoliza de tip cald- rece: hemoliza partiala care incepe la 37^0 C se intensifica la 4^{0}C*)

γ si **δ**.

- **leucocidinele** cu rol *antifagocitar* cu actiune selectiva pe macrofage si PMN ;
- **enterotoxinele** eliberate de unele tulpini de stafilococi (*mai ales de cei coagulazo-pozitivi*)**;** determina **toxiinfectii alimentare** sau **enterocolite pseudomembranoase postantibioticoterapie;** sunt eliberate in alimente si **rezista la tratamentul termic** (la *100^0C timp de 1 ora*); exista 6 astfel de toxine (*A pana la F*) ;
- **toxina epidermolitica si exfoliativa** care este eliberata de *tulpinile cu tropism cutanat*; actioneaza prin: distrugerea substantei fundamentale, exudatie locala, ruperea desmozomilor si desprinderea stratului superficial al epidermului;

S-au identificat si **alti factori de patogenitate**, cum sunt: **proteina A** din structura peretelui celular cu receptori pentru Fc al IgG, participand la reactia de coaglutinare; are si rol antifagocitar.

Procesul infectios stafilococic este determinat de existenta unor **conditii permisive**: plagi traumatice, arsuri, incizii chirurgicale, infectii virale, diabet zaharat, tehnici invazive ATI, administrarea de imunosupresoare sau un status imun deprimat. Frecvent **poarta de intrare** este la nivelul foliculului pilos, a glandelor sebacee sau sudoripare; deseori sursa de infectie este reprezentata de **stafilococii proprii** (*flora comensala*) de la nivelul *tegumentului, intestinului* sau *tractului respirator superior.*

Principalele localizari ale infectiilor produse de stafilococi sunt:

- **cutanate:** ***foliculite*** *(fig. 34)*, ***furuncul*** *(fig. 35)* (*reprezinta extensia la mai multi foliculi pilosi*), ***carbuncul*** *(fig. 37)* (*furuncul antracoid rezultat prin confluarea mai multor furuncule si afectarea tesutului subcutanat adiacent*), ***hidrosadenita*** *(fig. 36)* (*infectia la nivelul glandelor sudoripare cu localizare mai ales subaxilara*), ***acneea juvenila***, ***sindromul exfoliativ***,



Fig. 34– Foliculita



Fig.35 – Furuncul

Fig. 36- Hidrosadenita





Fig.37 – Carbuncul

- ale **fanerelor:** ***panaritiu*** (*infectia periunghiala*),

- la nivel **respirator**: in general infectiile bacteriene sunt **secundare unei infectii virale**: ***rinofaringita***, ***faringo-amigdalita***, ***pneumonii***, ***bronhopneumonii***; uneori infectiile de la nivelul cailor respiratorii superioare se pot extinde in sfera **ORL**: ***otite***, ***sinusite***, ***mastoidite***,

- la nivelul **aparatului digestiv** pot induce **toxiinfectii alimentare** (incubatia de pana la 4 ore, cu debut brusc cu *greturi insotite de varsaturi si scaune diareice si cu evolutie favorabila, remisiunea simptomelor fiind spontana in maximum 24 ore*) si ***enterocolita pseudomembranoasa post antibioticoterapie*,**

- la nivelul **aparatului uro-genital**: ***cistite***, ***pielonefrite***, ***abces renal***, ***metrite***, ***anexite***, ***mastite***, ***septicemii postabortum*** (*dupa avorturi septice*),

- la nivelul **aparatului cardio-vascular**: ***endocardite***, ***pericardite***, ***flebite***,

- la nivelul **SNC:** ***meningite***, ***abces cerebral***,

- in urma **septicemiilor** cu punct de plecare de la un *focar primar*, se produce diseminarea hematogena cu localizari secundare la distanta: ***artrite, abcese subcutanate*** *(fig. 38),* ***abcese pulmonare , renale****...*



Fig. 38– Abcese subcutanate

- **sindromul de soc toxico-septic** apare frecvent la femei dupa mentinerea indelungata a tampoanelor vaginale prin cantonarea bacteriilor la acest nivel si eliberarea toxinei raspunzatoare de manifestarile clinice specifice: *febra*, *greturi*, *varsaturi*, *diaree* si *descuamarea palmo-plantara*,

- **sindromul pielii oparite** este indus de eliberarea de catre anumite tulpini stafilococice a *toxinei exfoliative* care afecteaza mai ales nou-nascutii si consta in *exfolierea generalizata a tegumentului*.

Staphylococcus epidermidis *(fig. 39)* este un comensal al tegumentelor, avand caracter *coagulazo-negativ*, poate produce **bacteriemii** la *persoanele imunodeprimate* sau la persoanele cateterizate, colonizand secundar dispozitivele de protezare.

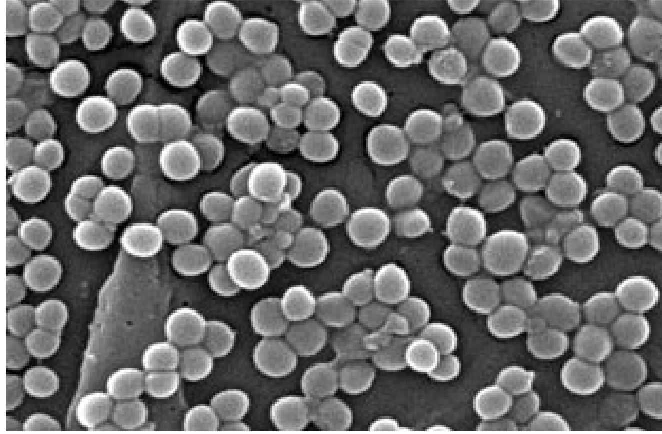


Fig. 39– Staphylococcus epidermidis (imagine electronomicroscopica)

Tratamentul infectiilor produse de stafilococi se efectueaza in conformitate cu rezultatului obtinut la *antibiograma* (*majoritatea stafilococilor sunt rezistenti la β lactamaze*).

Se poate administra vaccinul, ca tratament adjuvant, sub forma de:

- **autovaccin** (*contine germeni atenuati obtinuti din produsul biologic propriu, recoltat in conditii specifice*)
- **stocvaccinul** (*contine germeni omorati prin caldura, administrati in functie de serotipul agentului infectios*).

STREPTOCOCII

Apartin *Familiei Streptococcaceae*, *Genul Streptococcus*.

Sunt coci **Gram pozitivi**, asezati in frotiu in lanturi mai scurte sau mai lungi *(fig. 40)* (*dispozitia in lanturi se datoreaza diviziunii celulare care are loc mereu in acelasi plan, iar celulele fice au tendinta de a ramane alipite*).

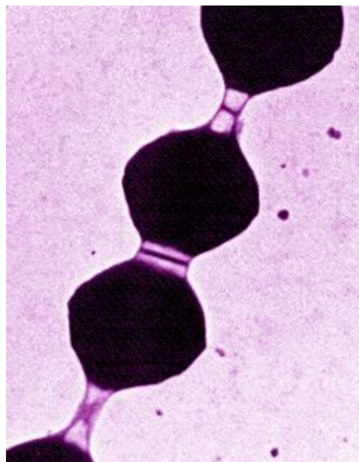


Fig. 40– Dispozitia streptococilor (ME)

Sunt bacterii **aerob-anaerob facultative**, cu **cerinte nutritive speciale.**
Din punctul de vedere al ***formatiunilor facultative*** streptococii:

- sunt uneori capsulati, **imobili** si **nesporulati**.

Caractere de cultura

- Pe **medii lichide** streptococii patogeni:
  - tulpinile capsulate determina o turbiditate omogena a mediului,
  - in general apar *grunji care se depun la fundul tubului.*
- Pe **medii solide** dezvolta **colonii foarte mici** (*mai mici de 1 mm*) circulare, bombate, **translucide** (*vizibile cu lupa*) *(fig. 41)*; pe **mediile cu sange**, majoritatea streptococilor dezvolta hemoliza in jurul coloniei; in functie de tipul hemolizei, **streptococii** se clasifica in**:**

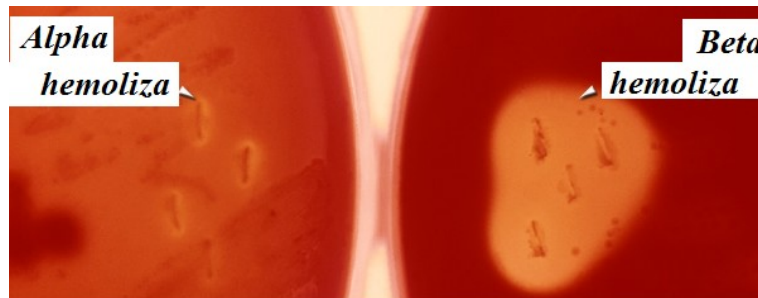


Fig.41 – α si ß hemoliza

- **α hemolitici** care produc o *hemoliza incompleta* (*degradarea hemoglobinei se face pana la stadiul de biliverdina*) vizibila de un *halou ingust* in jurul coloniei, de culoare verzuie (*streptococi viridans*),
- **α' hemolitici** cand hemoliza este cu margini neclare; hemoglobina este degradata complet, dar apar zone in care nu toate hematiile sunt lizate (*streptococi de grup B si D*),
- **β hemolitici** care produc hemoliza completa, ca o zona intinsa, clara, perfect transparenta in jurul coloniei; acest tip de hemoliza este determinat de *Streptococii piogeni* (*de grup **A, B, C** si **G***) care elaboreaza toxina **SLS** (*streptolizina oxigen stabila*),
- **γ hemolitici** cand hemoliza este absenta (*grupul serologic D/ enterococii*).

Clasificarea antigenica (Lancefield)

Majoritatea streptococilor au in *structura peretelui celular* un *determinant antigenic* numit ***polizaharidul*** **C**. Pe baza diferentelor de microstructura a acestuia la diferite tulpini de streptococi, *Barbara Lancefield* i-a grupat si a notat grupele de la *A* la *U* (***streptococi grupabili*****).**

La randul sau, fiecare *grup* se subimparte in: *serotip*, *lizotip*, *bactericinotip*, *antibiotip*... .

Streptococii care *nu* prezinta *polizaharidul C* au fost denumiti ***streptococi non-grupabili***.

Polizaharidul C nu este *un factor de patogenitate,* prin urmare *anticorpii specifici nu* au *rol in aparare.*

Factorii de patogenitate

Streptococii din grupul A contin **proteina M** care:

- confera rezistenta la fagocitoza,
- este antigenica si poate induce **cross-reactii** *cu structurile self ale organismului* (*sarcolema fibrei musculare, valve cardiace, membrana bazala glomerulara, sinoviala articulara*),
- este responsabila de patogenia sechelelor poststreptococice (*cardita reumatismala, artrita, glomerulonefrita acuta poststreptococica).*

Toxinele streptococice sunt de natura proteica si reprezinta factori majori de patogenitate, dintre acestea cele mai importante sunt:

- ***SLO*** *-* ***streptolizina oxigen-labila*** care are *activitate citolitica* (*hemolitica si leucolitica*) si *cardiotoxica*; este antigenica si induce formare de *anticorpi specifici anti-SLO* (***ASLO***); cresterea titrului ASLO indica o infectie recenta cu **Streptococ β-hemolitic de grup A (*SβhA*)**;
- **SLS -** ***streptolizina oxigen-stabila*** este responsabila de *hemoliza de tip β* si are *in vi*vo o activitate citoliticaa (*hemolitica, leucolitica si trombolitica*);
- **Eritrotoxina** sau **toxina eritrogena** *(fig. 42)* **-** eliberata *doar de anumite tulpini de SβhA* (*sintetizata numai tulpinile lizogenizate de un fag temperat care codifica sinteza ei*) si este responsabila de **eruptia din scarlatina** (*caracterizata din punct de vedere clinic prin angina si rush cutanat generalizat*)**;** este antigenica, prin urmare declanseaza sinteza de anticorpi protectori, astfel incat la o noua intalnire a organismului cu aceeasi tulpina, nu se va mai produce eruptia cutanata;



Fig. 42– Eruptia cutanata din scarlatina

- **Streptokinaza** (***SK/fibrinolizina***) activeaza plasminogenul si astfel se va produce *liza cheagului de fibrina;* este *antigenica* si determina sinteza de *anticorpi antiSK* ; se utilizeaza in tratarea trombozelor;
- **Dezoxiribonucleaza** (***ADN-aza, streptodornaza, SD***) este produsa de toti *SβhA* si au un rol major in declansarea glomerulonefritei acute poststreptococice (*GNAcP*S), degradeaza *ADN*-ul celulelor si este antigenica (*induce aparitia anticorpilor anti SD*);
- **Hialuronidaza** degradeaza *acidul hialuronic* din peretele celular, favorizand *invazia tisulara*.

Principalele localizari ale infectiilor produse de streptococi:

- **Streptococii non-grupabili** (*viridans*) apartin florei saprofite (*localizata la nivelul : cavitatii bucale, tegument, placa dentara, tract uro-genital, intestin*) si sunt *conditionat patogeni*; in anumite situatii pot ajunge in torentul sanguin si determina endocardita lenta.

- **Streptococii piogeni** (***de grup A***) sunt responsabili de infectii cu multiple localizari:

  Respiratorii: ***angine***, ***faringite*** urmate de:

  complicatii acute supurative: in sfera **ORL** (***otite***, ***sinuzite***, ***mastoidita***) ale **cailor respiratorii inferioare** (***pneumonii***, ***bronhopneumonii***, ***pleurezie***) **cardiace** (***endocardita***) **meningeale** (***meningite***);

  complicatii nesupurative *la distanta si tardive* (***RAA /cardita, coreea, purpura reumatismala, eritemul nodos/*** *si* ***GNAcPS***).

  Tegumentare:

  piodermite (*impetigo (fig. 43), intertrigo*) **erizipel** *(fig. 44)* (*eritem cutanat cu burelet marginal, localizat cu predilectie la nivelul extremitatilor; se extinde progresiv si este insotit de dureri de intensitate crescuta, febra, frison*);



Fig.43 – Impetigo



Fig. 44– Erizipel

scarlatina care este **o** boala infecto - contagioasa a copilariei *(fig. 45)* (*debutul este angina produsa de tulpinile de SBhA capabile sa sintetizeze **eritrotoxina** responsabila de **eruptia generalizata***);



Fig. 45 – Eruptia din scarlatina

Infectii genitale: endometrite

Streptococii de grup B (*agalactiae*) apartin *florei comensale* (*vagin, uretra, faringe, tegumente*) si sunt responsabili de infectii ale *nou-nascutului prematur* sau *subponderal* (*septicemie, meningita, infectii respiratorii sau ORL*) si ale *gravidei* (*infectii urinare, septicemii, avort*).

Streptococii de grup C au fost izolati la purtatorii sanatosi (*din exudatul faringian*) si uneori din saange, LCR, urina.

Streptococii de grup D (*vezi mai sus: enterococii*).

Complicatiile nesupurative sunt reprezentate de:

Reumatismul articular acut (***RAA***) care este o *boala autoimuna* si apare ca o **complicatie nesupurativa tardiva** a unei infectii faringiene cu **SβhA** (*dupa 2-4 saptamani de la debutul acesteia*),

organismul infectat elibereaza o cantitate mare de **Ac anti SLO**, **anti SK** si **antiSD** care se mentin crescuti, titrul devenind si mai inalt, cu fiecare noua infectie, cu toate acestea, nu au abilitatea de a elimina streptococul;

exotoxinele (*SLO, SLS, SK, SD*) actioneaza initial prin producerea unor *leziuni de tip exudativ si necrotic* (*miocard, valve cardiace, articulatii*) si astfel se *denudeaza Ag tisulare* care poseda structura similara cu *proteina M a SβhA*; secundar se sintetizeaza *cantitati crescute de Ac anti streptococici si AutoAc,* accentuandu-se leziunile initiale, in timp ce apar altele noi, la nivelul endocardului, cutanat, renal, sistem nervos si articular.

intreruperea *lantului epidemiologic* consta in eliminarea si prevenirea altei infectii cu *SβhA*, prin *tratarea cu penicilina retard dupa scheme terapeutice bine definite.*

ASLO creste dupa prima saptamana de la debutul infectiei cu *SβhA*, atingand *maximum in saptamana 3-4*, dupa care *descreste daca boala evolueaza spre vindecare*;

titrurile **ASLO mai mari de 1000 U/l**, semnifica perioada de debut pentru *RAA* sau *GNAcPS*; dupa tratament corect, *ASLO* scade, ceea ce semnifica acalmia *RAA* si vindecarea *GNAcPS*;

datorita frecventei mari de *infectii inaparente*, titrul se pozitiveaza si creste pana la 20-25 de ani, de aceea **se considera normal un titru <200 U/l**;

purtatorii sanatosi pot avea titrul *ASLO* normal;

monitorizarea titrului ASLO este importanta pentru aprecierea eficientei tratamentului si al evolutiei bolii.

Din punct de vedere *epidemiologic*, **principala sursa de infectie** cu *streptooci patogeni* o reprezinta **purtatorii sanatosi** (*bacteriile putand fi cantonate la nivelul cailor respiratorii superioare, vagin*).

PNEUMOCOCUL (STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE)

- este un **comensal** al cailor respiratorii superioare;
- din punct de vedere morfologic, cocii sunt usor alungiti, **lanceolati** *(fig. 46)* (*forma de "varf de lance" sau "flacara de lumanare"*), cu dispozitie ***in diplo*** (*doi cate doi*),
- in coloratia **Gram,** sunt colorati in **violet** (*Gram pozitivi*),
- din punctul de vedere al **formatiunilor facultative** sunt bacterii:

- de cele mai multe ori **capsulate** (capsula reprezinta un **factor important de patogenitate**); in coloratia Gram, capsula apare ca un *halou luminos* in jurul cocilor "*in diplo*", dar exista si *metode de colorare speciale* care pun in evidenta capsula pneumococului (*coloratia cu tus de China* - metoda Burri si *fenomenul de umflare a capsulei - Neufeld* vizualizata cu ajutorul unor seruri care contin anticorpi specifici anticapsulari (*antiK*),
- **imobile** si **nesporulate**;

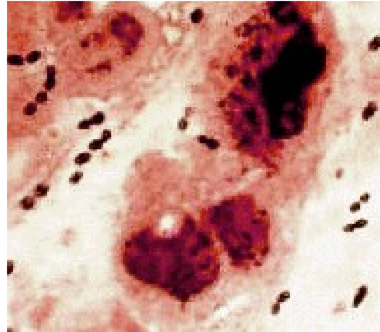


Fig. 46– Streptococcus pneumoniae(MGG)

Proprietati metabolice

Sunt germeni **aerob-anaerobi facultativi**, ***microaerofili*** (*se dezvolta mai bine in prezenta unei cantitati minime de* CO_2 *5%*),

Germenii sunt pretentiosi, avand **necesar metabolic crescut** (*medii cu adaos de sange, ser, lichid de ascita*); in culturile mai vechi apare fenomenul de **autoliza** (*datorita eliberarii unor enzime lipolitice si proteolitice*);

Pe mediile cu bila *(fig. 47)* (*sau saruri biliare*) dezvolta fenomenul de **bilioliza** (*autoliza favorizata de prezenta compusilor biliari*).

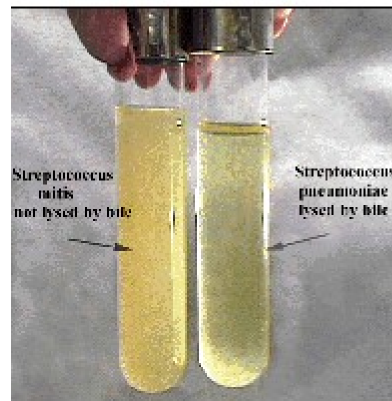


Fig. 47– Fenomenul de bilioliza

In vivo elibereaza o enzima responsabila de caracterul de invazivitate al tulpinii (***hialuronidaza***).

Pneumococul are capacitatea de a **fermenta inulina** (*caracter care permite diferentierea pneumococilor de alti streptococi **α hemolitici***).

Pneumococul prezinta **sensibilitate la optochin** *(fig. 48)* (diametrul zonei de inhibitie din jurul coloniei este > 20 mm) ceea ce reprezinta un alt caracter de diferentiere de alti streptococi α hemolitici.



Fig. 48– Sensibilitatea la optochin a pneumococilor

Tulpinile rezistente la Penicilina s-au dovedit a fi rezistente si la alte multe antibiotice (***caracter de polirezistenta la antibiotice***).

Caractere de cultura

Pneumococii tulbura uniform *mediul lichid*. P*e medii solide* dezvolta colonii rotunde, cu contur regulat, turtite, transparente, cu aspect mucoid (*datorita prezentei capsulei*); pe *mediile cu sange* (*geloza sange si geloza sange-chocolat*) dezvolta **α hemoliza**, datorita eliberarii unei hemolizine**.**

Structura antigenica

In *peretele celular* al ***pneumococului*** se afla **substanta C** care precipita *in vitro* cu o β globulina serica in prezenta ionilor de calciu (***proteina C reactiva-CRP***); aceasta proteina se gaseste in cantitati mari in serul pacientilor care trec printr-o perioada acuta a unui proces inflamator si care se elibereaza din celulele necrozate in zonele de inflamatie ale ficatului; in practica,dozarea **CRP** *este utila in monitorizarea evolutiei pacientilor cu inflamatii acute.*

La nivelul capsulei se gasesc Ag capsulare K, care reactioneaza cu serul specific de tip, astfel tulpinile pot fi serotipate pe baza reactiei de umflare a capsulei.

Patogenie

- 5-10 % din populatia sanatoasa este **purtatoare** de pneumococ (*fiind conditionat patogen*) la nivelul **rinofaringelui**;
- **principalele infectii** in care este implicat pneumococul sunt la nivelul **arborelui respirator superior** (pneumonia franca lobara, bronhopneumonii, pleurite) dar si **meningeale**, **ORL** (*sinusite, otite*) **articulare**, **tegumentare** s.a.
- in anumite situatii, in timpul proceselor pneumonice, pot fi izolati din hemocultura, datorita unor *bacteriemii tranzitorii*,
- dupa vindecare, e posibil ca in rinofaringe sa ramana pnemococii cantonati si persoana respectiva sa ramana la stadiul de purtator sanatos*;* e posibila o noua infectie cu aceeasi tulpina, numai daca infectia se permanentizeaza la nivelul unui focar inchis (*sinusita, bronsiectazie*).

Profilaxia se face prin *vaccinare* cu un amestec de 23 de tipuri de *Ag K* (***Pneumovax***).

2. COCII GRAM NEGATIVI

GENUL NEISSERIA

Este reprezentat de coci **Gram negativi**, **reniformi** ("***boaba de cafea***") *(fig. 49)* asezati in frotiu ***in diplo*****,** cu fetele concave privindu-se fata in fata;

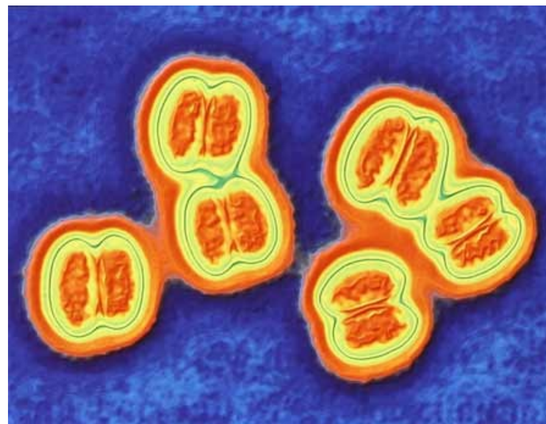


Fig.49 – Neisserii (IF)

Pe preparatele obtinute din produse patologice (*secretii genitale, LCR*) *Neisseriile patogene* apar cel mai frecvent **intraPMN** (*dar si extracelular*).

Prezenta *intracelulara* a *Neisseriilor* indica asupra **patogenitatii** lor (*sunt surprinse in cursul fagocitozei*) fiind astfel posibila diferentierea Neisseriilor patogene de cele nepatogene (*care apar doar extracelular*).

Din punct al proceselor metabolice, sunt bacterii **aerob-anaerob facultative, microaerofile** (*prefera cresterea in prezenta CO_2 4-8%*) **foarte pretentioase** si sunt **sensibile** la variatii de temperatura, umiditate, pH; din acest motiv transportul probelor si insamantarea se face pe medii preincalzite la 37^0C.

In culturi foarte vechi prezinta fenomenul de autoliza, motiv pentru care apare o mare varietate a formei coloniilor pe mediul de cultura solid.

Pe **medii de cultura solide** apar *colonii rotunde, bombate, lucioase (fig. 50)*, *foarte mici* (*0.5 – 1.0 mm cu aspect de **"picatura de roua"***) si sunt *oxidazo pozitivi*.



Fig. 50– Colonii de Neisseria meningitidis

Pe **medii lichide**, tulbura uniform mediul sau apare un mic depozit grunjos.

Speciile patogene sunt reprezentate de ***Neisseria gonorrhoeae (gonococ) si Neiseeria meningitidis (meningococ)***.

Specii nepatogene sunt comensale in cavitatea bucala, tractul respirator superior, tractul genito-urinar.

GONOCOCUL

Este agentul etiologic al **gonoreei** sau **blenoragiei**, boala cu transmitere sexuala in 99% din cazuri *(fig. 51)*.

Este un **parazit strict uman** (*exista receptori specifici la nivelul cailor genitale*); colonizarea se face prin intermediul **pililor comuni** pe suprafata mucoaselor indemne (*vagin, uretra, rect, faringe, conjunctiva*); in situatii particulare poate trece in torentul sanguin si se pot fixa la distanta, pe sinovialele articulare sau in alte organe, producand abcese.

Din punct de vedere *clinic*, 50% dintre femei si 5-10 % dintre barbati sunt **asimptomatici**, mentinandu-se astfel **lantul epidemiologic**.

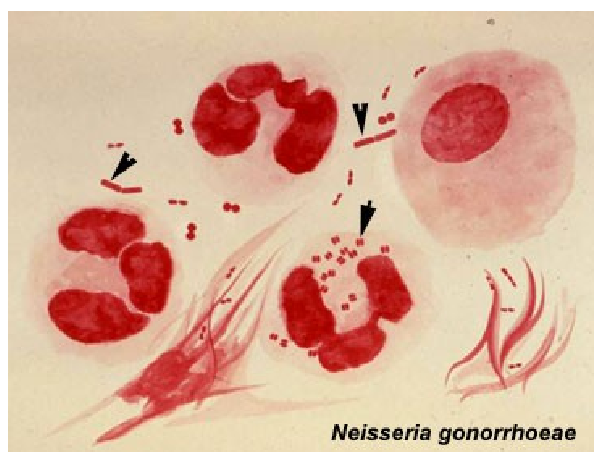


Fig. 51– Neisseria gonorrhoeae (col. Fucsina)

La barbat perioada de incubatie este de 2-8 zile de la contactul infectant, iar **simptomatologia** consta in disurie (*durere la mictiune*) si secretii purulente abundente; netratata, se poate **croniciza** si prin ascensiune (de-a lungul cailor urinare) sa determine si epididimita, uretrita cronica, prostatita, stricturi uretrale si chiar infertilitate; cronicizarea duce la scaderea in intensitate a secretiei, aceasta reducandu-se la **"picatura matinala"** *(fig. 52)*.

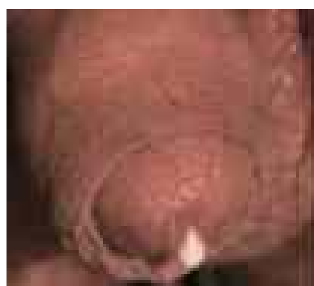


Fig. 52– Picatura matinala

La persoanele cu *practici sexuale deviante*, *gonococul* poate fi izolat de la nivel *anal* sau *orofaringian*.

La femeie infectia este frecvent asimptomatica, aceasta fiind frecvent sursa de infectie. Simptomatologia este reprezentata de uretrita usoara si tranzitorie, disurie moderata, colpita (*inflamatia colului uterin*), secretii mucopurulente, hemoragii intermenstruale; netratata infectia poate sa ascensioneze in micul bazin si sa produca *endometrita (inflamatia endometrului), salpingita (inflamatia trompelor uterine), ooforita (inflamatia ovarelor)*; prezenta dispozitivelor intrauterine conduce frecvent la sterilitate, sarcini ectopice, peritonite, abcese perihepatice.

La **nou-nascut**, in timpul travaliului, secretiile genitale materne vin in contact cu mucoasa oculara, si astfel se poate ajunge la producerea *oftalmiei gonococice* a nou-nascutului si chiar orbire; *profilaxia* se face prin instalarea in fundul de sac conjunctival a unei picaturi de $AgNO_3$.

O alta **sursa** importanta **de infectie** o constituie *bolnavii netratati corespunzator*.

MENINGOCOCUL

Este agentul etiologic al **meningitei meningococice**. *Transmiterea interumana* se face prin *aerosoli* (*picaturile lui Pflugge*) *(fig. 53)*.

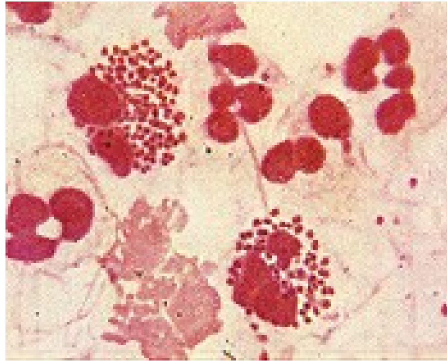


Fig.53 – Neisseria meningitidis

Meningococul paraziteaza exclusiv omul iar germenii patogeni au virulenta relativ scazuta

Exista un procent crescut de persoane care sunt purtatoare de meningococ, la nivelul cailor respiratorii superioare.

Patogenie

Initial **meningococii** pot produce **rinofaringite**; in conditii de *scadere a rezistentei locale* sau a unei solutii de continuitate, bacteriile strabat mucoasa, ajung in torentul sanguin si in *conditii de scadere a rezistentei generale* a organismului, strabat membrana hematoencefalica si se localizeaza la nivelul meningelui, producand **meningita meningococica** (*clinic caracterizata prin: febra, stare generala alterata, semne neurologice de iritatie meningeala: fotofobie, greturi, varsaturi in jet, redoare a cefei*); in functie de promptitudinea diagnosticului si a terapiei, *evolutia* poate fi *fatala* sau spre *remisiune*.

Diagnosticul trebuie pus in cel mai scurt timp; este obligatorie examinarea microscopica a preparatelor biologice (*LCR*) colorate Giemsa sau cu albastru de metilen.

Profilaxia impune identificarea si sterilizarea purtatorilor si vaccinarea persoanelor cu risc ridicat.

Familia Enterobacteriaceae

Caractere generale

Sunt bacili **Gram negativi**, **mobili** (*Salmonella, Proteus, E. coli*) *(fig. 54)* sau **imobili** (*Shigella, Klebsiella, Yersinia*).

Majoritatea **enterobacteriaceelor** sunt **necapsulate (***exceptie: Klebsiella spp***),** sunt **nesporulate, aerob-anaerob facultative.**



Fig. 54– Salmonella typhi (coloratie Gram)

Caracteristic tuturor speciilor ce apartin acestei familii este un set de 3 **proprietati biochimice** pe baza carora se diferentiaza de restul bacililor Gram negativi iplicati in patologia umana si anume:

1. degradarea **f**ermentativa si **o**xidativa a glucozei (***test FO pozitiv***),
2. citocrom**oxidazo negativi,**
3. capacitatea de a reduce nitratii la **nitriti.**

Reprezentantii familiei enterobacteriaceelor se pot identifica in 2 categorii:

- **germeni conditionat patogeni** (*bacterii comensale, cu habitat intestinal*):
    - **Escherichia coli** (***E.coli***), **Proteus** spp**, Klebsiella** spp**, Enterobacter** spp

- **germeni patogeni**: **Salmonella** spp, **Shigella** spp, **Yersinia** spp.

Structurile antigenice sunt:

- **AgO** (***somatic***) care **este** prezent in **peretele celular** al tuturor Enterobacteriilor**,** cu rol de **endotoxina**,
- **Ag H** (***flagelar***) prezent doar la **bacteriile mobile**, acestea prezentand ***cili*** (*flageli*)
- **AgK** (***capsular***) (*la Klebsiella spp*) care imprima caracterul mucos al coloniilor pe mediile solide de cultura.

Factorii de patogenitate cei mai importanti sunt reprezentati de:

- **endotoxine** (*LPS sau AgO din peretele celular*) responsabile de **socul endotoxinic** si **CID** (*Coagulare Intravasculara Diseminata*), **febra**, *efect abortigen…*
- **exotoxine** (***enterotoxine*** *eliberate de* ***E. coli, Salmonella*** *spp****, Shigella*** *spp,* ***Klebsiella*** *spp…*) cu actiune *asupra enterocitelor* si responsabile de *manifestarile digestive;*
- **pilii (*fimbriile*) cu** rol esential in **aderarea** la mucoase si in transferul de material genetic prin **conjugare**;
- capacitatea crescuta de **multiplicare** si de **invadare** a tractului intestinal si urinar (*E. coli*);
- capacitatea de supravietuire si **multiplicare intracelulara** (*intrafagocit*) cu posibilitatea de diseminare in tot organismul (*infectii sistemice date de* ***Salmonella*** *spp*).

Mediile de cultura care sunt utilizate in mod obisnuit pentru *izolarea* si *identificarea Enterobacteriilor* sunt:

- *geloza-sange*,
- medii selective (*utilizate pentru inhibarea florei asociate: fungi, bacterii Gram pozitive*): *Levine, Leifson, Mc Conkey…*

INFECTII CU ENTEROBACTERII COMENSALE

Enterobacteriile sunt foarte raspandite in natura si exista in *tubul digestiv uman* (*colon*) in *cavitatile naturale* (*Klebsiell*a), unde traiesc ca si bacterii **comensale**; aceste bacterii au fost identificate ca fiind implicate frecvent in patologia infectiilor de spital (*infectii nosocomiale*), cu preponderenta in sectiile de chirurgie, ortopedie, ATI… unde se utilizeaza frecvent si uneori abuziv antibiotice cu spectru larg de actiune. Finalul acestei terapii cu antibiotice este **selectia de tulpini cu potential patogen, plurirezistente la antibiotice**.

Tabloul clinic infectios se instaleaza mai ales la **persoane** cu **apararea naturala** sau cu **imunitatea deprimata**. Infectia se instaleaza in urma unor **manopere invazive** (*endoscopie, cateterizare, sondaje, drenaje, avand diferite localizari: sfera ORL, cai biliare, cai genitale, meninge…*) sau la nivelul unor **leziuni preexistente**: *traumatisme, tumori, arsuri…*

Genul Escherichia

Reprezententantul acestui gen este **E.coli**, care reprezinta 80% din flora colonului (*din* ***flora comensala***); *in anumite conditii favorizante, poate manifesta caractere de patogenitate.*

Prezenta sa in mediul extern (*apa*) denota o *contaminare fecala*. Sunt germeni *lactozo pozitivi*, iar pe mediile de cultura *(fig. 55)* degaja un miros caracteristic de „*varza stricata*”.



Fig. 55– Cultura de Escherichia coli

Infectii produse de E. coli, se pot identifica in functie de caracterele de patogenitate si de localizare, astfel:

- Infectii cu **localizari intestinale** (*enterocolite*) determinate *doar de tulpinile patogene*:
  - **E. coli enterotoxigen** (*ETEC*)
    - elibereazaa o *enterotoxina cholerae-like* (*exotoxina termolabila*) care determina transformarea enterocitului din celula absorbanta in celula secretanta, ceea ce duce la **cresterea eliminarilor de apa si electroliti** *in lumenul intestinal* si **cresterea motilitatii intestinale**, urmata de **diaree apoasa**;
    - determina **diareea calatorilor** (cu o perioada de incubatie de 1-2 zile, o perioada de stare de 3-4 zile cu un tablou clinic cu **greturi, varsaturi, crampe, diaree muco-apoasa**); apare frecvent in zonele calde, la persoanele cu igiena defectuoasa.
  - **E. coli enteroinvaziv** (*EIEC*)
    - sunt germeni cu *potential invaziv* (*Shigella-like*) care produc *ulceratii ale mucoasei* si o *diaree muco-sanguinolenta*.
  - **E. coli enteropatogen** (*EPEC*)
    - prin pilii codificati plasmidic, adera la membrana enterocitelor si determina *distrugerea microvililor;*
    - este implicat in *epidemii la copii*;
    - manifestari clinice sunt febra, greturi, varsaturi, diaree;
  - **E. coli enterohemoragic** (*EHEC*)
    - sunt tulpini *neinvazive*, *dar toxigene*, responsabile de febra si leziuni la nivel colonic (*toxinfectii alimentare*);
    - determina **diaree hemoragica** si **sindrom hemolitic-uremic.**

- Infectii cu **localizari extraintestinale**

- **Infectii urinare** (*inalte sau joase*) determinate de *tulpinile nefritigene* (*care au receptori pe uroepiteliu*) stiut fiind ca pe primul loc in etiologia infectiilor urinare se afla *E. Coli*,
- **Colecistite**,
- **Colite**,
- **Infectii ale cailor respiratorii superioare**,
- **Meningite**,
- **Septicemii** (*20% au focarul initial la nivel gastrointestinal sau urinar*).

Genul Proteus

Speciile reprezentative pentru patologia umana sunt: **Proteus mirabilis** si **Proteus vulgaris. Habitatul** este in *sol, ape reziduale* si *de suprafata, alimente, microbiocenoza intestinului uman* (*mai ales la persoane cu disbioze induse de tratament indelungat cu antibiotice*).

Particularitati morfologice si de cultura

Sunt bacili Gram negativi cu *polimorfism accentuat*, **mobili** (pe medii de cultura plate, determina **fenomenul de invazie „valurire”** *(fig. 56)* (*acest fenomen nu apare pe mediile de cultura ce contin bila*) in timp ce mediile inclinate prezinta **fenomenul de „catarare”**



Fig. 56– Bacilul Proteus (fenomenul de „valurire”)

Prezinta o **rezistenta crescuta** in *solutiile antiseptice si detergenti*, ceea ce explica persistenta si difuzibilitatea sa in **mediul spitalicesc.**

Este implicat frecvent in etiologia **infectiilor urinare** (*al doilea loc dupa E. coli*), dar si in infectii nosocomiale cu alte localizari (*plagi, arsuri…*)

Genul Klebsiella

Sunt bacili Gram negativi, imobili, **capsulati** (*capsula mucoasa are un rol important in patogenitate si confera caracterul mucos al coloniilor pe mediul de cultura solid (fig. 57*); prezinta mai multe variante antigenice ale structurii capsulare (***AgK***).



Fig.57 – Cultura de Klebsiella pneumoniae

Speciile implicate in patologia umana sunt:

- **Klebsiella pneumoniae** care determina **pneumonia bacteriana** (*cu serotipuri polirezistente la antibiotice*)**,** dar si **bronsite, abcese pulmonare, infectii generalizate**,
- **Klebsiella ozenae** care determina o atrofie *progresiva a mucoasei nazale* acompaniata de un miros fetid (***ozena***),
- **Klebsiella rhinoscleromatis** care este agentul etiologic al **rinoscleromului** (*granulom distructiv al nasului si faringelui*),
- **Klebsiella oxytoca**.

INFECTII PRODUSE DE ENTEROBACTERII PATOGENE

Bacteriile din acest gen sunt **bacili Gram negativi**, **mobili**, **nesporulati**, **necapsulati**. Din punct de vedere *biochimic* sunt germeni **lactozo negativi, producatori de gaz** si **H_2S** si cresc pe **mediu cu citrat** (***Simmons***).

Habitatul este larg reprezentat: a fost izolata de la pasari (*oua de rata, praf de oua*), mamifere, din sol, ape de suprafata, alimente de origine animala.

Rezervorul il constituie omul bolnav si purtatorii sanatosi (*rezervorul de Salmonella este vezicula biliara*).

Structurile antigenice sunt reprezentate de:

- **Ag O somatic** (*LPS- endotoxina*) care este **determinant antigenic de grup**
- **Ag H flagelar** care este **determinant de tip**.

Diagnosticul serologic clasic se face prin *identificarea anticorpilor specifici* formati impotriva *AgO* si *H*, utilizand **reactia Widal,** dar actual cel mai frecvent sunt utilizate **metode imuno-enzimatice.**

Genul Salmonella cuprinde mai multe specii**;** cele mai reprezentative pentru patologia umana sunt:

- ***Salmonella typhi*** si ***Salmonella paratyphi A, B*** care produc ***febrele tifo-paratifoide***,
- ***Salmonella typhimurium*** si ***Salmonella enteritidis*** *(fig. 58)* care produc ***gastroenterite***,
- ***Salmonella cholerae suis*** care produce ***septicemie***.

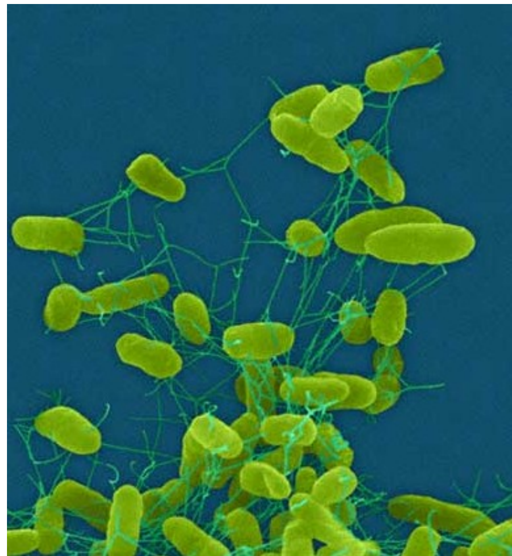


Fig. 58– Salmonella enteritidis (ME)

- **Febrele tifo-paratifoide.** Salmonelele ajung in tubul digestiv, penetreaza mucoasa si submucoasa, se multiplica rapid local in formatiunile limfoide (*placi Peyer, ganglionii mezenterici*); se produce o prima bacteriemie urmata de localizarea secundara a Salmonelelor in diferite organe (*ficat, maduva hematogena, splina, ganglioni limfatici*); dupa o noua multiplicare, se produce a doua bacteriemie cu eliminarea prin bila, materii fecale si urina.

- **Gastroenteritele** produse de salmonele debuteaza la 6-48 ore de la ingestia alimentelor contaminate cu un *tablou clinic* cu *astenie, diaree, varsaturi, stare generala alterata, anorexie, cefalee*; *starile grave* se pot solda cu *deshidratare accentuata* si chiar cu *soc toxicoseptic*.
- Unele persoane pot ramane **purtatoare asimptomatice** dupa trecerea prin infectie constituind un important rezervor de Salmonele; in scop epidemiologic, se fac *controale periodice* la angajatii din alimentatia publica si colectivitati de copii, pentru a intrerupe lantul epidemiologic.

Genul Shigella

Este reprezentat de *bacili Gram negativi, nesporulati, necapsulati, lactozo negative (fig. 59);* spre deosebire de bacteriile apartinand *Genului Salmonella*, acesti germeni nu produc H_2S si gaz; nu degradeaza ureea si lizina.



Fig. 59– Shigella dysenteriae

Speciile reprezentative pentru *patologia umana* sunt:

- *Shigella dysenteriae*
    - *tip1 Shiga,*
    - *tip2 Schmitzi,*
    - *serotipurile 3-10 Large-Sachs*
- *Shigella flexnery,*
- *Shigella boydii,*
- *Shigella sonnei*.

Habitatul este reprezentat de *colonul sigmoid al omului bolnav* si *al purtatorilor sanatosi* (*temporari sau cronici*) reprezentand si rezervorul de Shigelle; contaminarea se face prin intermediul apei, alimentelor, obiectelor contaminate; principalii vectori sunt reprezentati de muste;

- **Factorii de patogenitate sunt reprezentati de :**
    - **Exotoxina** neurotropa si enterotropa
    - **Endotoxina** din peretele celular, care se elibereaza prin liza masiva a bacililor
- **Patologia**: bacilii din Genul Shigella mai sunt cunoscuti sub denumirea de *bacili dizenterici,* deoarece sunt implicati in producerea **dizenteriei bacilare**
- Dizenteria este o *boala infecto-contagioasa*, cu *transmitere fecal- orala*;
- **din punct de vedere fiziopatologic**, exotoxina produce *leziuni ulcerative*, insotite de microabcese si *hemoragii locale*;
- din **punct de vedere clinic**, se caracterizeaza prin aparitia *febrei si* ***scaune frecvente, muco-sangvinolente****, colici abdominale si tenesme rectale; in final se produce o deshidratare importanta a organismului*

Genul Yersinia

- **Reprezentat** de cocobacili Gram negativi, aerob anaerob facultativi, incapsulati, nesporulati, imobili (la 37^0C) *(fig. 60).*

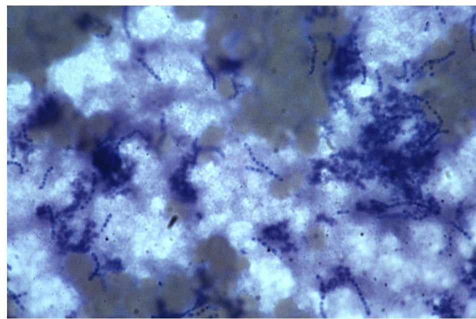


Fig. 60– Yersinia pestis (ME)

- **Produc** pesta (ciuma)
- **Rezervor** : rozatoarele (sobolanul)
- **Vectori**: insecte hematofage (purece de sobolan); ciclul evolutiv este in tubul digestiv; produsul final este un dop cu Yerinii ce va fi regurgitat in timpul pranzului hematofag in organismul sanatos.
- **Transmiterea interumana**: prin muscatura de purice, mai ales prin aerosoli sau prin contact direct.
- **Specii reprezentative**:
    - **Yersinia pestis**- patogen, agent etiologic al **pestei** (ciumei)
    - **Yersinia enterocolitica**- conditionat patogen, agent etiologic al enterocolitei, caracterizata prin dureri abdominale pseudoapendiculare si scaune diareice; se manifesta mai ales la persoane cu imunitatea deprimata

- **Yersinia pseudotuberculosis**- conditionat patogen;

Probe biologice in care se pot izola Yersinii: lichid vezicular, puroi din bubon, sputa, sange.

Proprietati de cultura: pe mediul AABTL produce colonii transparente, albastru- verzui; degradeaza lactoza ;

- **Patologie:**
  - **Pesta pneumonica**- caracterizata prin debut brusc dupa o perioada de incubatie de 1-14 zile, cu manifestari respiratorii, febra, stare generala alterata, delir; frecvent se mai poate observa leziunea initiala veziculara la locul de inoculare (intepatura purecelui)
  - **Pesta bubonica-** se caracterizeaza prin aparitia **bubonului pestos**, cu localizare frecvent inghinala (conglomerare de ganglioni tumefiati, durerosi, cu tendinta la abcedare, inconjurati de o zona edematiata si hemoragica)
- **Profilaxie/ intreruperea lantului epidemiologic:**
  - Deratizare si dezinsectizare
  - Izolarea in spital a bolnavilor
  - Incinerarea cadavrelor
  - Carantinarea timp de 6 zile apersoanelor care au calatorit in zone endemice
  - Raportarea de urgenta a primului caz aparut si comunicarea OMS

ALTI BACILI GRAM NEGATIVI
(altii decat enetrobacteriacee)

Familia Psedomonaceae

- Reprezentata de bacili Gram negativi, mobili, citocromoxidazo pozitivi, nepretentiosi din punct de vedere metabolic; prezinta o polirezistenta fata de antibiotice;
- Cuprinde ***specii patogene*** (*dar cu virulenta scazuta*) pentru: plante, animale, om.

- Reprezentata de ***bacterii oportuniste*** ce se pot gasi pretutindeni: in apa, sol, pe produse vegetale; fac parte din **flora de spital** (*selectat ca urmare a utilizarii uneori abuzive antibioticelor cu spectru larg*), responsabila de **infectiile nozocomiale** (*intraspitalicesti*) mai ales la *persoanele imunodeprimate* sau cu aparare locala deficitara (*solutii de continuitate, cateterisme, arsuri*)
- Cele mai frecvente infectii umane sunt date de bacterii apartinand *genului Pseudomonas*, cu principala sa *specie* **Pseudomonas aeruginosa (*bacil piocianic*).**

- **Factori de patogenitate:**

- *pili cu rol in aderare si transfer de material genetic mai ales cu rol in transferul de rezistenta fata de antibiotice*
- *capsula polizaharidica*
- *LPS-ul din peretele celular*
- *exotoxine*
  - *piocianaza - cu efect bactericid pentru alte specii;*
  - *piocina - cu efect bactericid pentru aceeasi specie, dar nu si pentru aceeasi tulpina;*

- **Patogenie:**
  - Infectii purulente cu localizari variate: respiratorii, gastro-intestinale, endocardice, urinare, plagi (*suprainfectii*), chiar infectii generalizate (*septicemii*).

- **Caractere specifice:**
  - Pe mediile de cultura si in produsele patologice (*puroi*) elibereaza pigmenti: **piocianina** (*imprima culoare albastruie produselor biologice*) si **pioverdina** (*imprima culoare verzuie mediilor de cultura*); de asemenea mirosul degajat este caracteristic (*dulceag, de" floare de salcam*") *(fig. 61)*



Fig.61 – Pseudomonas aeruginosa cultura

Genul Vibrio

- **Cuprinde doua specii importante in patologia umana: V. cholerae si V. parahaemolyticus**
- Reprezentat de bacili Gram negativi, incurbati, nesporulati, mobile *(fig. 62)*, **oxidazo pozitivi**; se dezvolta foarte bine in mediu alcalin (apa peptonata alcalina, pH 8-9), fiind **germeni halofili.**

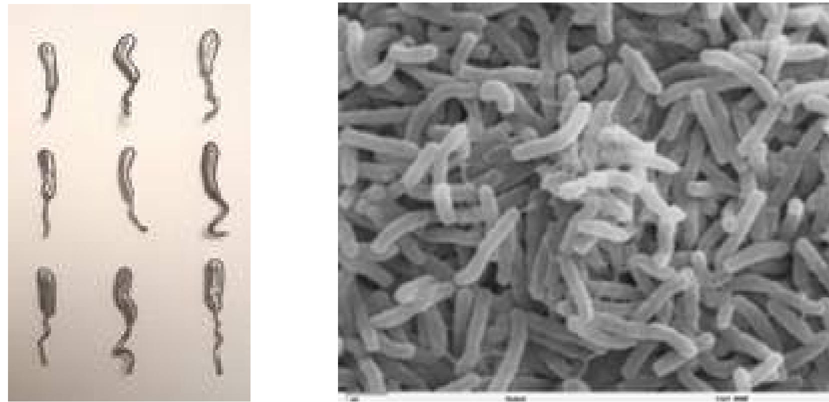


Fig. 62– Vibrio cholerae (ME)

- **Sursa de vibrioni**: *apa, alimente contaminate* (*mai ales in zone calde*) cu vibrioni; pentru intreruperea lantului epidemiologic, *bolnavii* vor fi izolati obligatoriu; *starea de purtator sanatos* va putea fi identificata doar prin examen coprobacteriologic.

- **Factori de patogenitate**:

  - Are capacitate de multiplicare, dar nu este invaziva
  - principalul **factor de patogenitate** este exotoxina cu actiune directa asupra enterocitelor **(*enterotoxina*);** aceasta patrunsa in enterocit, modifica metabolismul celular**, crescand sinteza de cAMP,** enterocitul transformandu-se din celula absorbanta in celula secretanta; efectul: creste eliminarea in lumenul intestinal de **apa si electroliti (*Na+ si K+*);** se produce o *exfoliere a mucoasei digestive*, care se traduce prin aparitia unor **granulatii riziforme** in materiile fecale.

- **Reprezentanti:**

  - **V. cholerae 0: 1** (*vibrionul holeric*) – este un patogen strict uman, fiind agentul etiologic al holerei; are 2 biotipuri:

    V. cholerae cholerae- nehemolitic, sensibil la clor;

    A. cholerae El Torr (cu 4 serotipuri: Ogawa, Inaba, Hikojima, si cel „fara nume”**)- hemolitic, rezistent la clor**

  - **Vibrioni neaglutinabili cu serurile O:1** (vibrioni neaglutinabili cu seruri O:1- „**NAG**”)- agenti etiologici ai sindroamelor holeriforme (*fara a fi grave*)

- Din punct de vedere **clinic**, perioada de incubatie este de 1-4 zile, iar in perioada de stare holera se caracterizeaza prin: crampe abdominale, greturi, varsaturi; principalul sindrom este **diareea apoasa** (*cu un continut crescut de celule epiteliale, mucus si bacterii; aspectul este caracteristic „ca apa de pe orez”).*

Datorita pierderilor importante de apa si electroliti se produce un **dezechilibru hidro-electrolitic** (*hemoconcentratie, acidoza metabolica cu hipopotasemie),* soc hipovolemic; rata de *mortalitate este ridicata* (25-50%).

Genul Mycobacterium (tuberculoza si micobacteriozele)

Este reprezentat de **bacili Gram pozitivi**, **rectilinii** *sau* **usor incurbati**, **imobili**, **necapsulati**, **nesporulati**, **aerobi** *(fig. 63)*.



Fig. 63– Mycobacterium tuberculosis(col. Z-N)

In *peretele celular* au un continut crescut de *lipide* (***acid micolic***); acest caracter confera **acido-alcoolo-rezistenta** acestor bacterii, permitand vizualizarea bacteriilor prin utilizarea **coloratiei Ziehl-Neelsen**; asa se explica si supravietuirea in mediile acide din organism (*posibilitatea identificarii Mycobacteriilor in sucul gastric, mai ales la copii)*;

Micobacteriile sunt bacterii cu *rezistenta crescuta* la anumite conditii de mediu nefavorabile (*desicare, intuneric*) dar sunt *foarte sensibile* la *radiatiile UV*.

Mycobacteriile patogene pentru om, sunt reprezentate de:

- **Mycobacterium leprae** (*agentul etiologic al **leprei** umane si nu se dezvolta pe mediile de cultura*),

- **Mycobacterium tuberculosis** (***hominis**, **bovis** si **avium***) cunoscut si sub denumirea de **bacil Koch** (***BK***); acesta se dezvolta lent pe mediile de cultura si determina **tuberculoza *umana*** si/sau ***animala***;

- **Mycobacteriile atipice** (*care sunt saprofite, conditionat patogene pentru om si animale*); determina **micobacterioze** cu *localizare pulmonara, ganglionara, tegumentara sau granuloame organice*.
    - in functie de eliberarea unor pigmenti in prezenta sau absenta luminii, *Mycobacteriile atipice* sunt:
        - *scotocromogene,*
        - *fotocromogene,*
        - *necromogene* (*nepatogene pentru om*) si
        - *mycobacterii cu crestere rapida* (*patogene pentru om*).

Principalele localizari ale **tuberculozei umane** sunt:

Tuberculoza pulmonara:

- cu *variante clinice*:
    - **primoinfectia,** cand exista *o leziune minima* fara dezvoltarea unui sindrom caracteristic (*complexul primar Ranke*) si care *se vindeca spontan,*
    - *tuberculoza pulmonara* **infiltrativa** *sau* **cavitara**,
    - *tuberculoza* **ganglio-mediastinala**,
    - **pleurezi**i *tuberculoase*,
    - **tuberculoza miliara** (*extinderea prin contiguitate, pe cale bronhogena, hematogena sau limfatica*).

Tuberculoza extrapulmonara cu localizare:

- **osteo-articulara** (*coloana vertebrala: morbul lui Pott*),
- **uro-genitala**,
- **ganglionara** (*mai ales latero-cervicala*),
- **meningeala**,
- **digestiva** si **peritoneala**,
- **renala** (*si corticosuprarenala- boala Addison*).

Din punct de vedere **clinic,** tuberculoza se caracterizeaza prin: *oboseala*, *astenie*, *subfebrilitati vesperale*, *tusa cu expectoratie* (*hemoptizie*), *antecedente personale patologice incarcate* (*fumator, afectiuni respiratorii frecvente, purtator cronic, nivel socio-economic scazut*).

Evolutia poate fi:

- *favorabila* (*autolimitare, autosterilizare*) sau
- *nefavorabila* (*ramolisment cazeos, fistulizare in bronsii si in final dezvoltarea cavernelor, reprezentand surse majore de diseminare sanguina si limfatica*).

Transmiterea tuberculozei se face mai ales pe **cale aerogena**, *favorizata* de *conditii insalubre, supraaglomerarea, intuneric, umezeala*.

Dintre **proprietatile** acestui gen cele mai *importante* sunt urmatoarele:

- *bacilul Koch*:
    - supravietuieste *in mediul extern o perioada indelungata*, fiind rezistent la uscaciune si intuneric,
    - supravietuieste in celulele fagocitare (*intrafagocitar*) o perioada lunga (*de ordinul anilor*),
- *variantele bacilului tuberculos*, se dezvolta *pe mediile de cultura* in medie *intre 4- 6 saptamani,*
- mediul de cultura special este **Löwenstein – Jensen** *(fig. 64)*.

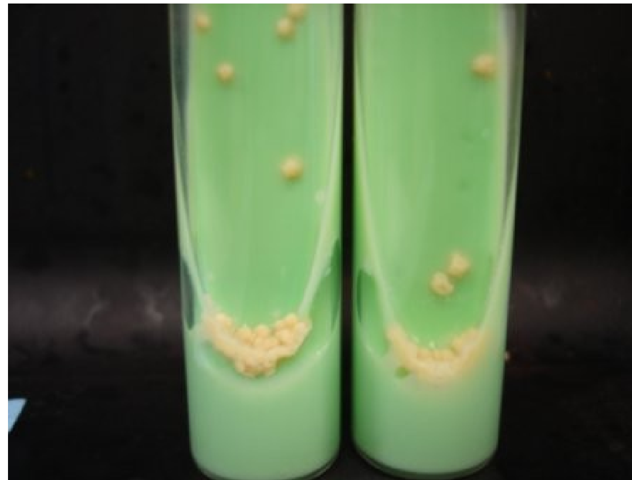


Fig.64 – Culturi de Mycobacterium tuberculosis pe mediul Löwenstein – Jensen

Profilaxie si monitorizare

In *primele 72 ore de la nastere*, orice individ este *vaccinat* in *scop profilactic* (*BCG/Bacil Calmette Guerin*); *bacilii* dispar din cicatricea vaccinala in 2-3 ani; rolul lor este preluat ulterior de *alti BK* patrunsi in organism in cursul *primoinfectiei*.

In mod obisnuit toate persoanele fac **primoinfectia**, insa *fara manifestari clinice*; *BK* supravietuiesc *in ganglionii din apropierea leziunii primare* si declanseaza **imunitatea mediata celulara** (*hipersensibilitatea de tip intarziat tip IV*); cu participarea acestui tip de reactie imuna, este *inhibata multiplicarea locala*, limitandu-se raspandirea infectiei, astfel incat la un *nou*

contact cu BK, individul nu va face boala; la persoanele *imunodeprimate* (*alcoolici, boli cronice, HIV…*) *BK din leziunea primara* se pot *reactiva* si pot *sa produca boala*.

Testarea sensibilitatii la tuberculina (*IDR la tuberculina*) se face prin inocularea pe fata anterioara a bratului a unei mici cantitati de *PPD* (*derivat proteic purificat*) cu scopul de *a identifica statusul imun al pacientului (fig. 65)*.

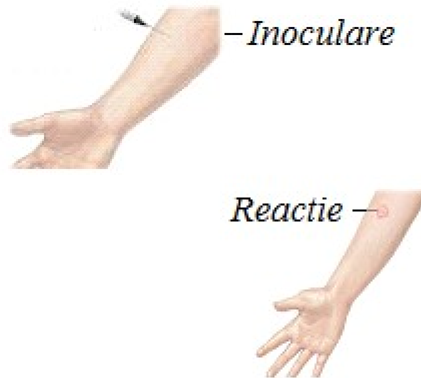


Fig. 65 - Testarea sensibilitatii la tuberculina (IDR la tuberculina)

Exista mai multe *situatii*, astfel:

- daca pacientul *nu a fost vaccinat* sau *nu a trecut prin primoinfectie* sau *a trecut recent printr-o infectie virala imunodeprimanta* (*varicela, rujeola, HIV…*), **reactia locala este nula** (*IDR negativ*); *pacientii* respectivi vor avea *indicatie de vaccinare*,

- daca pacientul *a fost vaccinat* si/sau *a trecut prin primoinfectie* apare o reactie locala (*eritem si edem*) cu un *diametru transversal al edemului* **< 10 mm**,

- daca *diametrul induratiei* este **> 10 mm**, pacientul va fi **monitorizat**: *MRF* si/ sau efectuarea unui *frotiu colorat Ziehl-Neelsen* din *sputa*.

Genul Corynebacterium. Difteria

Genul este reprezentat de numeroase **specii saprofite/comensale** (*pe tegumente si mucoase, denumite **difteromorfi***) si **specii patogene** (***bacili difterici***).

Din punct de vedere **morfotinctorial** sunt bacili **Gram pozitivi**, **pleiomorfi**, deformati la unul sau ambele capete (***corpusculi metacromatici Babes–Ernst**, care contin substante de rezerva si pot fi pusi in evidenta doar prin coloratii speciale: **Del Vecchio***); in frotiul din produsul patologic, au *asezare caracteristica* "**in litere chinezesti**" sau „**majuscule**: *X, Z, Y, M, N*…" sau „**in palisada**" *(fig. 66)*.

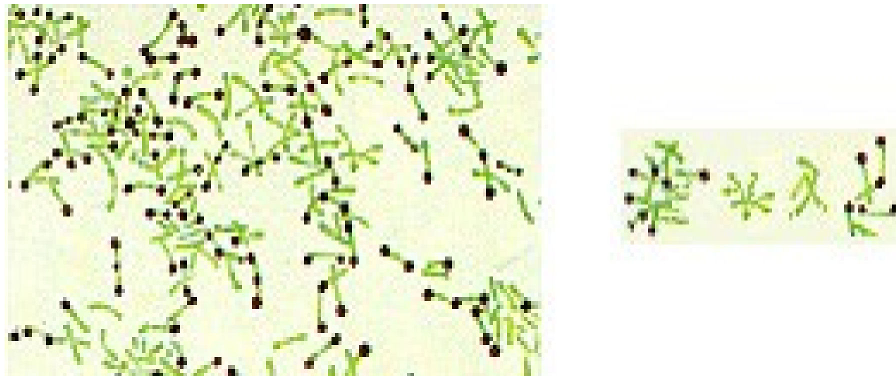


Fig. 66 - Corynebacterium dyphteriae (IF)

Principalul reprezentant **patogen** este agentul etiologic al ***difteriei*: Corynebacterium dyphteriae** *cu trei variante, in functie de gravitatea infectiei*: ***gravis, mitis, intermedius***.

De remarcat faptul ca **numai tulpinile lizogenizate** *cu un bacteriofag* (***β-tox***) sunt *patogene*, deoarece *bacteriofagul* contine *informatia genetica* care *codifica sinteza exotoxinei* responsabile de *producerea leziunilor celulare*.

Toxina difterica este de natura proteica si este antigenica; **vaccinarea** cu *anatoxina difterica* (*inclusa in bivaccinul Di-Te sau trivaccinul Di-Te-Per*) in primele luni de viata, este obligatorie si este deosebit de utila in profilaxie;

In caz de *boala* se administreaza **ser** (*contine anticorpi antitoxici*) capabil sa neutralizeze toxina inainte de a penetra in celule; toxina este constituita din 2 fragmente:

- **A** (***a**ctivity: responsabila de activitatea toxica*) si
- **B** (***b**inding: fragmentul de legare la receptorii celulari*).

Epidemiologie

Rezervorul de infectie este reprezentat de **purtatorii sanatosi** si **bolnavi**, infectia **se transmite aerogen,** prin *picaturile lui Pflügge*.

Patogenie

Bacilii se ataseaza *la receptorii celulelor din faringe* si se multiplica; ***toxina*** actioneaza *initial local* prin *inhibarea sintezelor proteice celulare*, ceea ce are ca efect ***necroza celulara*** si aparitia de ***false membrane***, responsabile de *obstructia cailor respiratorii superioare* si *asfixia bolnavului,* in lipsa unor **masuri urgente** (*traheostomie/ intubatie, antibioterapie, seroterapie*); *falsele membrane* sunt de *culoare gri* si sunt *puternic aderente la mucoase*; incercarea de *a le detasa* determina *sangerari abundente*. *Exotoxina eliberata* in sange, actioneaza *la distanta*, pe alte structuri.

Din punct de vedere **clinic** difteria se caracterizeaza:

- printr-o **angina cu false membrane** (*crup difteric*),
- **febra** si
- *fenomene* **de intoxicatie**: *miocardite*, *paralizii* (*de val palatin*),
- *afectiuni* **renale**, **suprarenale**, **hepatice**…
- foarte rar, *localizarea primara* poate fi *conjunctivala sau tegumentara.*

Tratamentul trebuie sa fie:

- atat **antibiotic** (*doze foarte mari de Penicilina*) pentru *a impiedica dezvoltarea bacteriana* cat si
- **antitoxic** (*administrare de anatoxina difterica*) pentru *neutralizarea exotoxinei sintetizate* si *eliberate in circulatie*.

Familia Spirochetaceae. Sifilisul

Cuprinde bacterii de **forma spiralata** (*spirochete*) *(fig. 67)*, incadrate in *3 genuri*, toate implicate in patologia umana:

- **Genul Treponema**, care cuprinde:
  - **specii saprofite, comensale** ale *mucoaselor genitala* si *bucala*, dar si
  - **specii patogene**, majoritatea implicate in *boli cu transmitere veneriana*;

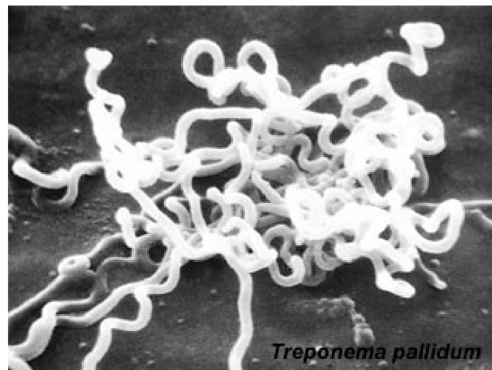
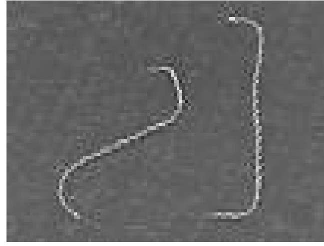


Fig. 67– Treponema pallidum (ME)

- **Genul Leptospira,** cuprinde bacterii implicate in producerea *leptospirozelor (fig. 68);*



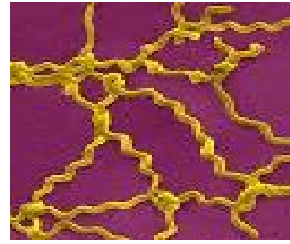


Fig. 68– Leptospira interrogans(ME)

- **Genul Borrelia** cuprinde bacterii implicate in aparitia *boreliozei*, *febrelor recurente* si a *bolii de Lyma (fig. 69)*.



Fig. 69– Borrelia burgdorferi

Genul Treponema

Este reprezentat de:

- **bacterii spiralate**, cu *10-20 spire* (*egale, dispuse in acelasi plan*),
  - *vizibile* doar la *microscopul pe fond intunecat* (***spirochete***);
  - au capetele ascutite (*cu rol in penetrarea mucoaselor intacte si a tegumentelor cu microleziuni*),
  - *flexibile* si *foarte mobile* (*miscari de rotatie, insurubare…*);

Exista mai multe **specii patogene**:

- **Treponema pallidum** (*principalul reprezentant al acestui gen*), *agentul etiologic* al **sifilisului** care este *o boala veneriana*, ***specific umana***,
- ***Treponema pertenue***, in zonele calde tropicale determina aparitia **pianului**, boala veneriana, care se manifesta *tardiv* prin *leziuni osoase*,
- ***Treponema carateum****,* determina **pinta**, mai ales *in America Centrala si de Sud*; se caracterizeaza *initial* prin *leziuni cutanate* si *tardiv* prin *leziuni cardio-vasculare* si ale *sistemului nervos central*.

Sifilisul

Este o boala cu **transmitere:**

- **veneriana** (*mai ales*) sau
- prin **contactul leziunilor primare** si **secundare** (*care prezinta o serozitate bogata in treponeme*) cu *tegumente* sau *mucoase intacte* sau *lezate*;
- pe cale **verticala** (***transplacentar**, de la mama la fat*);

Netratat sau ***tratat incorect*** evolueaza in ***trei stadii***:

Sifilisul primar

- apare dupa o *perioada de latenta de 10-60 de zile* de la *contactul infectant*; se caracterizeaza prin aparitia unei *leziuni unice, nedureroase, cu diametrul de 1-3 cm, „in sticla de ceas", cu burelet marginal, avand baza indurata (**sancru primar**) (fig. 70):*

- principala localizare este la nivelul *organelor genitale externe,* dar si *interne*; foarte rar leziunile pot apare la nivel *anal* si chiar *bucal*;
- are caracter *eroziv*, fiind acoperita de o *crusta*; sub crusta se afla o *serozitate* bogata in treponeme, ceea ce face ca leziunea sa fie *extrem de contagioasa*.



Fig. 70- Sancru primar

- apare si ***adenopatie locoregionala bilaterala caracteristica*** (*un ganglion mare, central, inconjurat de ganglioni mai mici, aderenti intre ei, dar neaderenti de planurile subjacente „closca cu pui"*);

- in aceasta perioada **se pozitiveaza reactiile serologice** (***RBW***- *Reactia Bordett-Wassermann*).

Perioada de latenta postprimara

- se caracterizeaza prin ***vindecarea spontana*** a ***leziunii primare*** (*dupa 4-6 saptamani*), insa ***reactiile serologice raman pozitive***, ***pacientul este in continuare contagios***.

Sifilisul secundar

Se caracterizeaza prin**:**

- aparitia unei **eruptii maculo-papulare generalizata** (*enantem si exantem localizat pe gat, spate, umeri, gambe, fese, axile*);
- *papulele* sunt *umede, palide, iar serozitatea este bogata in treponeme*, ***pacientul*** fiind ***extrem de contagios***;
- ***leziunile*** apar si dispar *„**in valuri**”* care se succed pe *o perioada de maximum 1-3 ani,* dupa care se „***vindeca***” ***spontan***;
- ***micropoliadenopatie generalizata*** si ***hepatosplenomegalie****.*

Evolutia *ulterioara* este variabila:

25% spre ***vindecare definitiva***;
25% spre ***starea latenta pe toata durata vietii***;
50% progreseaza ***spre sifilis tertiar***.

Perioada de latenta tardiva

Este de aproximativ *2 ani*, cand *adenopatia dispare* si *diagnosticul serologic* este *dificil* (*scade titrul anticorpilor*); *treponemele* se „*retrag*” in zone *putin oxigenate*, cum sunt: *splina, ficatul, maduva hematogena*.

Sifilisul tertiar

Este un ***proces latent*** si ***limitat*** la unele *tesuturi* si *organe*; apar ***granuloame degenerative*** (**gome sifilitice)** care constau in *modificari structurale* si *conformationale ale organului afectat*:

- *ficat* (*ficat „legat”, sifilitic*),
- *stomac* (*linita plastica a stomacului*),
- *aorta* (*aortita luetica cu evolutie spre anevrism*),
- *sistem nervos* (*tabes dorsal*),
- *sistem osos;*

In aceasta perioada ***pacientul nu este contagios***.

Sifilisul congenital

Apare daca *gravida* se *infecteaza* in *a doua parte a sarcinii*; se poate *manifesta:*

- *precoce* (*hepatosplenomegalie, rozeole tegumentare, pemfigus palmo-plantar*) sau
- *tardiv* (*gome sifilitice la nivelul SNC, „tibia iatrogena” sau*
- *prin triada Hutchinson: orbire, surditate sifilitica si modificari de implantare a dintilor..*

Diagnosticul **serologic** face apel la mai multe tipuri de *teste*:

1. **antigene netreponemice** (***cardiolipina*** *care are antigenicitate asemanatoare cu cea a treponemelor si este un extras din cord de bou*):
   - **VDRL** (***V****eneral* ***D****isease* ***R****esearch* ***La****boratory*) este un test de triaj pentru depistarea sifilisului (*primar*); ca principiu este o *reactie de floculare*; are o *sensibilitate crescuta*, dar o *specificitate scazuta* (pot apare ***reactii fals pozitive***: la gravide, sau dupa ingestie de alcool, postprandial, administrare de vaccinuri, precum si in alte situatii patologice: *lepra*, *infectii virale*, *stari canceroase*, *boli autoimune: poliartrita reumatoida, lupus eritematos diseminat*); de aceea *orice rezultat pozitiv trebuie confirmat printr-un test cu specificitate mai mare, de exemplu* ***TPHA*** (vezi mai jos);
   - **RBW** (***R****eactia* ***B****ordett-****W****assermann***)** este o reactie de fixare a complementului, care are o *sensibilitate scazuta* (*cu procent crescut de* ***reactii fals negative*** *in sifilisul tertiar*) si o *specificitate crescuta (rata scazuta de reactii fals pozitive);*
   - **RPR carbon** (***Ra****pid* ***P****lasma* ***R****eagin***),** in care cardiolipidul este fixat pe suport solid reprezentat de *particule de carbon*, astfel incat anticorpii specifici vor putea fi detectati prin *reactii de aglutinare*; *specificitatea este redusa*, de aceea se recomanda *confirmarea prin TPHA* sau *ELISA*.

2. antigene treponemice (*implica utilizarea de treponeme vii, ceea ce presupune un risc crescut de contaminare*):
   - **FTA-abs** (***F****luorescent* ***T****reponemal* ***A****ntibody* ***A****bsorbtion* ***T****est***),** presupune o *reactie de imunofluorescenta*: are o *sensibilitate crescuta*, dar o *specificitate scazuta*; treponemele apar fluorescente, cu spire egale la microscopul UV si pe fond intunecat.
   - **TPHA** (***T****reponema* ***P****allidum* ***H****emaglutination* ***T****est*) este un test de hemaglutinare, cu o sensibilitate superioara fata de alte teste si cu o specificitate mare; este *cel mai util test utilizat in diagnostic* (*sifilis secundar*) sau *pentru confirmarea altor teste* care au o specificitate inferioara.
   - **TPI** (***T****reponema* ***P****allidum* ***I****mobilisation*) este un test prin care se pun in evidenta *anticorpii specifici* din *serul pacientilor*, anticorpi capabili sa imobilizeze treponemele vii.

***Sensibilitatea** unui test este cu atat mai mare cu cat acesta este capabil sa detecteze cantitati minime din **anumiti analiti**.

****Specificitatea** unui test este cu atat mai mare cu cat **interferenta** cu compusi avand structura asemanatoare, este **mai mica**.

Anticorpii antitreponemici scad la 6-24 saptamani de evolutie (*in sifilisul secundar si tertiar se recomanda a se utiliza teste cu sensibilitate crescuta, de exemplu TPHA*).

La 6 luni dupa un tratament corect, *se negativeaza toate reactiile serologice* (*primele se negativeaza VDRL si RBW, ulterior TPHA*).

ANAEROBI PATOGENI

Veillon a impartit *germenii anaerobi* in:

Anaerobi telurici (*sporulati*), care apartin **genului Clostridium** (***Clostridium tetani, Clostriudium botulini, Clostridium perfringens*** *s.a*)

Anaerobi endogeni (*nesporulati*) sunt inclusi in „**flora Veillon**”.

Principalele **cauze predispozante** ale *infectiilor cu anaerobi* sunt:

diabetul zaharat si angiopatia diabetica,
alcoolismul,
corticoterapia,
imunosupresia,
tratamentul cu Aminoglicozide,
plagile profunde,
corpii straini,
manopere invazive (*interventii chirurgicale…*).

Diagnosticul de laborator

Este absolut obligatoriu sa se respecte **conditii de stricta anaerobioza** atat in timpul ***recoltarii*** si a ***transportului***, cat si a ***manipularii*** si ***termostatarii culturilor***.

Suspiciunea prezentei unei *bacterii strict anaerobe* se ridica atunci cand:

- *produsul patologic* are un *miros putrid, fetid*,
- *germenii* vazuti *la examenul microscopic* **nu** cresc *in aerobioza*,
- *cresterea germenilor* se face cu predilectie *in zona de anaerobioza a lichidelor* si *agarului*.

In astfel de situatii se coroboreaza rezultatele bacterioscopiei cu cele obtinute la cultura.

Genul Clostridium

Este reprezentat de **bacterii patogene** pentru om; din punct de vedere morfotinctorial sunt bacili **Gram pozitivi**, **mobili** (*exceptie este Clostridium perfringens*) **sporulati**, unii sunt ***capsulati*** (*Clostridium perfringens*).

Sunt germeni **strict anaerobi** (*oxigenul este toxic pentru supravietuirea bacteriana*).

Sporii, caracteristici genului:

- sunt *ovoizi* sau *sferici*, avand diametrul mai mare decat grosimea bacilului; prin urmare *modifica specific forma* acestora, in functie de asezarea in celula bacteriana,
- nu se coloreaza cu coloratiile uzuale; pot fi evidentiati cu *coloratia Moller* (*speciala pentru spori*).

Habitatul este reprezentat de *sol, praf, aer* si *in intestinul uman* sau al altor animale.

Clostridium tetani

Este agentul etiologic al **tetanosului**. **Sporul** este rotund, asezat **terminal**, avand diametrul de 2-4 ori mai mare decat corpul bacterian *(fig. 71)*, astfel incat celula bacteriana are forma de **„bat de tobosar"**, **mobilitatea** este foarte mare**:** prezinta *fenomenul „de catarare" pe medii inclinate.*



Fig. 71– Clostridium tetani

Metabolismul este activ; in cursul lui se elibereaza numeroase ***enzime*** cu rol in degradarea materiei organice: **prote*aze***, **gelatin*aze***, **hemo*lizine***.

Toxigeneza

Forma vegetativa, ajunsa in *conditii optime de anaerobioza*, elibereaza in organism doua tipuri de ***toxine***:

- **tetanolizina**, cu efect hemolitic si
- **tetanospasmina** care:
    - este o *exotoxina* cu *structura proteica*, avand ca si *tinta placa neuromotorie* (***neurotoxina)***;
    - *blocheaza* eliberarea unui *inhibitor postsinaptic de acetilcolina*; se produce o **contractura continua**, **convulsiva**, **dureroasa**, cu tendinta la generalizare;
    - o toxina **antigenica**; prin prelucrare poate fi transformata in **anatoxina**, utilizata ca *vaccin pentru profilaxia* tetanosului (*trivaccin Di**Te**Per, sau bivaccin Di**Te***),
    - toxina este **imunogena***;* poate fi utilizata la obtinerea **serurilor antitoxice** (*contin anticorpi antitoxici*) utilizate in *terapia de urgenta*, in coditiile unei *plagi cu potential tetanigen*.

Din punct de vedere **clinic**

- primul semn care este si patognomonic este **„risus sardonicus"** sau **trismusul** datorat *spasticitatii muschilor mimicii*;
- prin **generalizare**, apar **contracturi ale musculaturii paravertebrale**, astfel incat, apare o pozitie caracteristica **„opistotonus"** sau „**cocos de pusca**" (*bolnavul se spijina pe calcaie si pe ceafa, in timp ce coloana vertebrala este arcuita*);
- contractura se insoteste de **fotofobie, cefalee**, **dureri musculare** care *se exacerbeaza la **zgomote, lumina puternica***.

Conduita terapeutica in prezenta unei plagi tetanigene este urmatoarea:

- *spalarea* si indepartarea mecanica a corpilor straini si a sfacelurilor;
- *curatarea in profunzime* cu **apa oxigenata** (*asigura hemostaza, antreneaza la suprafata plagii resturile tisulare si corpi straini, dar in primul rand determina o puternica oxigenare in **profunzimea plagii***);
- *antibioterapie*;
- *seroterapie de urgenta*;

Clostridium botulinum

Este agentul etiologic al **botulismului** (*sin. botulinism*). Prezinta un ***spor subterminal*** (*forma de „racheta de tenis”*) *(fig. 72)*.

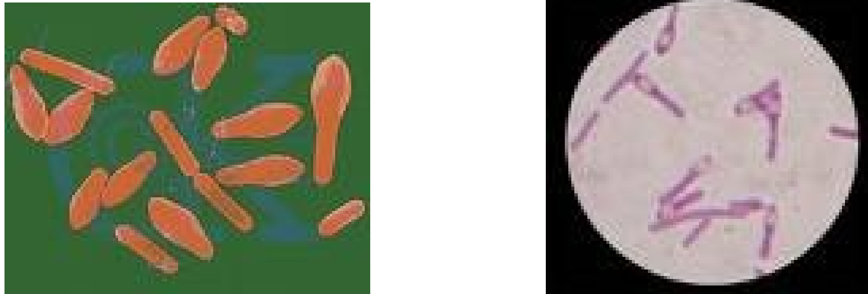


Fig. 72- Clostridium botulinum (ME)

Alimentele contaminate cu spori si insuficient tratate termic (*preparate din carne sarata sau afumata sau conserve - mai ales din peste*) reprezinta *mediul ideal* in care se dezvolta *formele vegetative producatoare de toxina botulinica*.

Aceasta **bacterie *nu e virulenta*** in organism ci ***doar exotoxina preformata*** si ***ingerata*** induce *patologia specifica*.

Toxina:

- este **antigenica**; exista mai multe **tipuri** de *toxina botulinica***:**
    - **A -** cea mai puternica toxina cunoscuta,
    - **B**, C, D**, E, F** - izolate mai ales din conservele de peste;
- poate fi izolata din *alimentele suspecte, lichidul de spalatura gastrica* sau de *varsatura* si din *serul pacientului,*
- **serurile antitoxice** *mono- sau polivalente* sunt utilizate in terapie, in functie de rezultatul obtinut prin **toxinotipie** (*identificarea serotipului toxic*),
- este responsabila de toxinfectia alimentara (***botulinism***):
    - inhiba *eliberarea de acetilcolina* in fanta sinaptica *de la nivelul placii neuromotorii,*
    - determina *intreruperea transmisiei de impulsuri nervoase* catre *musculatura striata* si *neteda*, cu aparitia **paraliziei flasce**.

Botulinismul se caracterizeaza prin: *diplopie, deglutitie ingreunata, tulburari de vorbire, paralizii ale musculaturii implicate in respiratie, cu asfixie si moarte.*

Clostridium perfringens si alte Clostridii ale gangrenei gazoase

Principalii reprezentanti sunt:

- ***Clostridium perfringens****,*
- ***Clostridium oedematiens****,*
- ***Clostridium hystoliticum***.

Proprietati morfotinctoriale

Sunt **bacili Gram pozitivi**, **imobili**, **capsulati**, cu **spor central** (*forma caracteristica de „suveica" sau "barcuta"*) *(fig. 73)*.

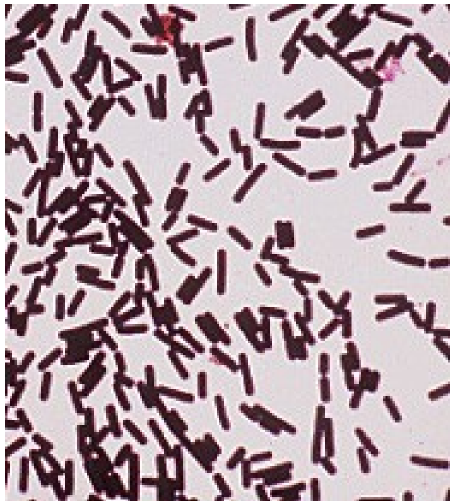


Fig.73 - Clostridium perfringens (col. Gram)

Factorii de patogenitate sunt reprezentati de:

- **α-toxine** cu *efect hemolitic*, *dermonecrotic* si *letal* (*actioneaza pe SNC*) si
- **enterotoxine** responsabile de *toxiinfectii alimentare.*

Conditiile favorabile dezvoltarii unei **gangrene** sunt**:**

- *zone neirigate,*
- *corpi straini,*
- *tesuturi necrozate,*
- *hemoragii,*
- *leziuni cutanate,*
- *digestive,*
- *uterine…*

Mecanisme de actiune la nivelul *tesuturilor* sunt urmatoarele:

- ***fermenteaza carbohidratii*** cu *eliberarea de* ***gaz***; *acumularea de gaz* in tesuturi va determina ***o distensie locala*** cu interesarea *vaselor sanguine* si a *filetelor nervoase; tesutul afectat* prezinta ***crepitatii*** si un ***miros fetid, caracteristic***;
- ***progresia*** *gangrenei* se realizeaza prin ***lizarea acidului hialuronic*** (*necroza, anemie hemolitica cu toxemie severa si moarte*).

Din punct de vedere **clinic,** pot apare**:**

- *gangrena gazoasa a membrelor,*
- *infectii postoperatorii in micul bazin sau tub digestiv,*
- *post avorturi septice,*
- *abcese cerebrale,*
- *panoftalmii*.

Tratamentul este **de urgenta** cu intentia:

- *neutralizarii toxinei* cu *ser polivalent antitoxic*;
- *debridarii largi a tesutului afectat* (*pentru oxigenarea plagilor*),
- exciziei *zonelor de necroza*,
- tratamentului intens cu antibiotice (*Penicilina*).

PARAZITOLOGIE UMANA

Parazitii sunt *organisme vii* (*vegetale sau animale*) care traiesc o anumita perioada a ciclului lor de viata, in relatie de dependenta cu un alt organism viu, denumit ***gazda***.

Pentru asigurarea perpetuarii propriei specii in natura, parazitul va suferi anumite transformari care sa-i asigure adaptarea la conditiile oferite de gazda, in cadrul ciclului biologic.

Specificitatea parazitara se refera la faptul ca:

- anumiti paraziti se adapteaza doar la anumite gazde, fiind cunoscuti ca paraziti specifici;
  - mai mult exista specii ecologice ale aceluiasi tip de parazit, care sunt identice din punct de vedere morfologic, dar nu se pot adapta decat la o singura gazda (ex. ascaridul omului si cel al porcului)
- alti paraziti prezinta o specificitate relativa, adaptandu-se la mai multe gazde
  - exista paraziti specifici animalelor, dar care s-au adaptat in timp si la om (zoonoze)

Din punct de vedere al patogenitatii, actiunea parazitilor asupra organismului uman poate fi:

- absenta- parazitul folosind organismul uman doar ca adapost (paraziti incolini)
- prezenta, producandu-se:
  - infectii (cand sunt prezente protozoarele)
  - infestatii (cand sunt prezenti helminti)

Mecanismele prin care parazitii pot actiona asupra organismului gazda sunt multiple:

- dereglarea digestiei intestinale prin eliberarea de catre parazit a unor substante cu rol protectiv fata de sucurile digestive (antichinaze)
- consumul principiilor alimentari din tubul digestiv, inainte ca acestea sa fie absorbite in circulatie- parazitii cu localizare in tubul digestiv)
- malabsorbtie (produsa de protozoare si helminti)
- producerea unor **grade variate de anemie** prin**:**
  - **hemoliza** in timpul multiplicarii parazitare (*Plasmodium*),
  - **hranire cu hematii** prin lezare peretelui intestinal (parazitii hematofagi: *Entamoeba dysenteriae, Ancylostoma duodenale*),
  - consumul de vitamina B_{12} (*Diphylobotrium latum*)

   - eliberarea unor factori toxici cu efect hemolitic

- actiune mecanica si iritativa- produsa de parazitii care au poarta de intrare prin tegumentul intact (*Strongyloides stercoralis*, filariile, *Sarcoptes scabiei*)
- eliberarea de toxine cu efect local sau general (neurotrop, piretogen, medulotrop, endocrinotrop)

Reactia organismului fata de prezenta parazitilor poate fi variabila:
- aproape indiferenta (fata de parazitii incolini)
- reactie inflamatorie (tinde sa izoleze parazitul: *Trichinella spiralis*, *Echinococcus granulosus*)
- reactie hiperplazica
- *Raspunsul organismului* variaza functie de tipul, numarul si localizarea parazitilor.

Denumirea parazitozei deriva de la denumirea genului, la care se adauga ***sufixul***: ***-iaza*,** -oza, sau –iasis.

S-au pastrat insa si denumiri consacrate cum ar fi: malaria sau paludismul (genul *Plasmodium* cu cea mai importanta specie *Plasmodium* ***malariae***), amibiaza (*Ent**amoeba** dysenteriae*), oxiuriaza (*Enterobius vermicularis* sau **oxiurul**).

Raspunsul imun poate fi uneori protectiv pe toata durata vietii, dar de cele mai multe ori nu este suficient de puternic pentru produce singur vindecarea.

In majoritatea cazurilor anticorpii formati ofera laboratorului posibilitatea de a pune diagnosticul. Tratamentul antiparazitar este obligatoriu.

Din punct de vedere clinic *se suspicioneaza* o parazitoza cand pacientul prezinta:

- disconfort abdominal, dureri periombilicale
- greturi, varsaturi
- intoleranta la anumite alimente sau anumite mirosuri
- cefalee, agitatie psiho-motorie, insomnii, tulburari de memorie
- prurit perinazal, perianal, cu alta localizare sau generalizat
- anamnestic:
   - provine dintr-o colectivitate in care s-a diagnosticat o parazitoza
   - a calatorit recent in anumite zone endemice pentru anumite parazitoze
   - a consumat carne sau produse din carne neverificate din punct de vedere veterinar

Diagnosticul de certitudine al parazitozelor este cel **de laborator**.

I. Diagnosticul direct poate pune in evidenta in diferite probe biologice:

- **parazitul** ca atare (larve sau paraziti adulti),
- **fragmente de paraziti** (*Taenia saginata*)
- alte **elemente parazitare** (forma vegetativa, chiste, oua).

Principalele **probe biologice** in care pot fi evidentiate elemente parazitare sunt: materiile fecale*,**, suc duodenal, sputa, sange, lichid cefalorahidian, lichid de punctie, fragmente bioptice…

*probele de materii fecale vor fi recoltate de mai multe ori la intervale de 5-7-10 zile pentru a se putea surprinde eliminarea oualor sau chistelor; functie de ciclul biologic al parazitului aceste elemente se elimina intermitent (**examen coproparazitologic clasic**);

deoarece ouale de *Enterobius vermicularis* (sin: oxiuri) se depun in pliurile perianale, se recomanda recoltarea raclatului perianal prin **metoda amprentei anale (NYH)

Toate probele sunt examinate:

- **Macroscopic**- pentru evidentierea **helmintilor** si larvelor cu dimensiuni macroscopice sau a **modificarilor induse de prezenta parazitilor**: urme de sange, puroi…
- **Microscopic**- pentru evidentierea Protozoarelor (forme vegetative si chistice) si a oualor de helminti care au **forme si dimensiuni specifice**, ceea ce permite diferentierea lor.

In anumite situatii **antigenele specifice parazitare** (*Giardia lamblia*) pot fi identificate in probele biologice (materii fecale) cu ajutorul anticorpilor monoclonali.

II. Uneori diagnosticul direct nu este accesibil (parazitoze sistemice, helmintiaze viscerale), de aceea se recurge la **diagnosticul indirect**: se pun in evidenta **anticorpi specifici antiparazitari** de tip *IgM si IgG*. Una dintre cele mai moderne metode pentru identificare si titrare a anticorpilor este *tehnica **ELISA***.

III. Investigatii complementare: formula leucocitara poate fi deviata in sensul cresterii ca % si in valoare absoluta a **numarului de eozinofile** (*mai ales in helmintiaze*).

CLASIFICAREA PARAZITILOR. PRINCIPALII REPREZENTANTI

A. PROTOZOARE

Clasa Rhisopoda

Genul *Entamoeba (Entamoeba coli, Entamoeba dysenteriae)*

Clasa Flagelate

Flagelate tisulare: Genul *Leishmania*, Genul *Trypanosoma*

Flagelate cavitare: *Giardia lamblia, Trichomonas vaginalis*

Clasa Sporozoare

Ordinul Coccidia
Ordinul Hemosporidii *(Genul Plasmodium)*
Alte specii cu taxonomie incerta (*Toxoplasma gondii, Pneumocystis carinii, Blastocystis hominis*)

Clasa Ciliata (*Balantidium coli*)

B. HELMINTI (VIERMI)

Increngatura Plathelminti (Viermi plati)
Clasa TREMATODE (*Fasciola hepatica*)
Clasa CESTODE (*Taenia solium, Taenia saginata, Echinococcus granulosus, Diphylobotrium latum*)
Increngatura Nemathelminti (Viermi cilindrici)
Clasa NEMATODE *(Ascaris lumbricoides, Enterobius vermicularis, Trichuris trichiura, Trichinella spiralis*, Filarii)

C. ARTROPODE

Ordinul ACARIENI
Familia *Sarcoptidae*
Familia *Ixodide*

INCRENGATURA PROTOZOARE

CLASA RIZOPODE

Clasa Rizopode este reprezentata de organisme:

- unicelulare, lipsite de membrana
- au corpul usor deformabil;
- in cautarea hranei si in timpul inglobarii de particule emit pseudopode (false picioare)
- se reproduc asexuat
- se prezinta sub doua forme:
  - **forma vegetativa** (trofozoit) capabila de inmultire si de producere a bolii
  - **forma chistica** - forma de rezistenta a parazitului in conditii improprii si de transmitere interumana

Importanta medicala au Rizopodele din **Genul Entamoeba**:

- *E. dysenteriae*- parazit hematofag, agent etiologic al dizenteriei amibiene caracterizata prin scaune cu puroi si sange; rar pot apare abcese hepatice prin metastazare (*fig. 74*).
- *E. coli*- parazit incolin, care se hraneste cu bacterii si resturi alimentare (*fig. 75)*

Transmiterea este pe cale fecal-orala

Diagnosticul de laborator consta in evidentierea formelor vegetative si chistice in materiile fecale.



Fig. 74– Entamoeba dysenteriae

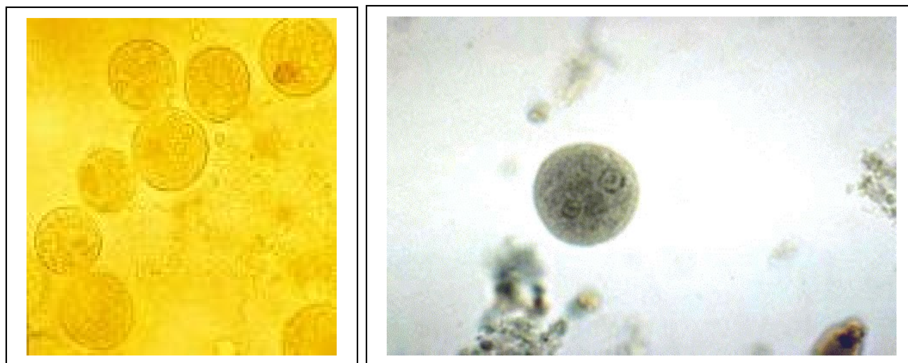


Fig. 75– Entamoeba coli: trofozoiti (stanga) si chist (dreapta)

CLASA FLAGELATE

Flagelatele au in comun faptul ca se deplaseaza cu ajutorul unor organe de locomotie specializate**: flageli**

Functie de localizarea lor in organism se clasifica in:

- **Flagelate tisulare**: genul *Leishmania* si genul *Trypanosoma* (*fig. 76*).

- **Flagelate cavitare**: *Giardia lamblia* si *Trichomonas vaginalis*

Pentru zona noastra geografica, importanta majora au *Flagelatele cavitare*.

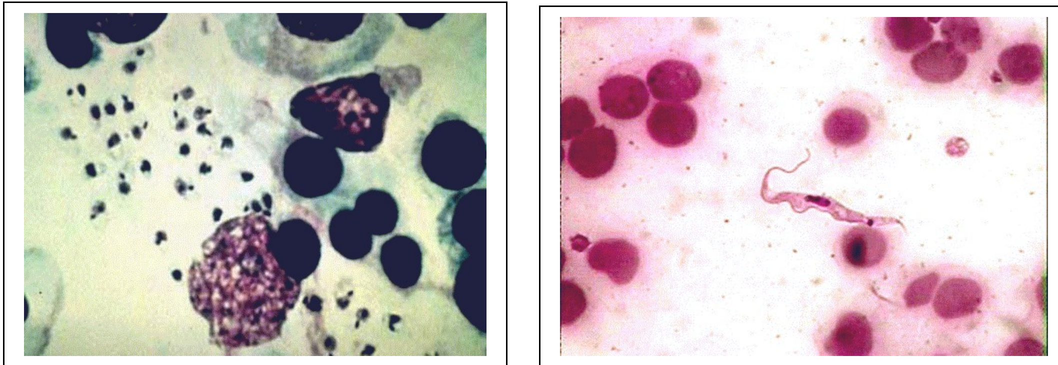


*Fig. 76 –Flagelate tisulare (*genul *Leishmania* si genul *Trypanosoma)(MGG)*

Giardia lamblia *(Giardia duodenalis, Giardia intestinalis)*

- Este agentul etiologic al giardiozei (lambliazei)
- Se prezinta sub 2 forme:
    - Forma vegetativa- piriforma, 15-20μ, cu 2 nuclei anteriori si 4 perechi de flageli; observabila doar in lichidul duodenal (*fig. 77*).

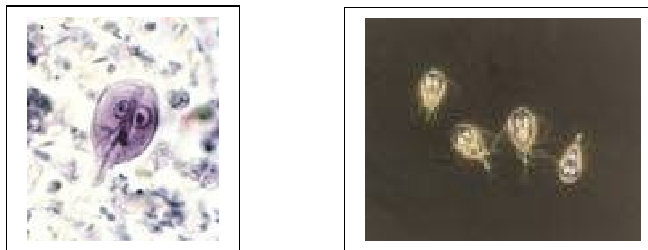


Fig. 77– Giardia intestinalis (forme vegetative)(MGG si IF)

- Forma chistica- caracteristica: ovoidala, 8-12μ, cu 4 nuclei si un manunchi de flageli; este elementul cheie in diagnosticul microscopic (*fig. 78*).



Fig.78 – Giardia intestinalis (forme chistice)

- Transmiterea este fecal-orala
- Giardiaza se caracterizeaza prin leziuni inflamatorii enterale asociate cu manifestari digestive (intoleranta la lapte, gresuri, varsaturi) si chiar neuropsihice (somn agitat, iritabilitate…)
- **Diagnosticul de laborator** consta in evidentierea:
    - chistilor de parazit prin examen coproparazitologic clasic
    - antigenelor parazitare in materiile fecale
    - anticorpilor specifici antiGiardia lamblia

Trichomonas vaginalis

- Parazit uman localizat strict la nivel uro-genital: uretra la barbat, vagin la femei
- Se prezinta numai sub forma vegetativa (trofozoit), motiv pentru care transmiterea este posibila doar prin contact direct (boala cu transmitere sexuala)
- Trofozoitul este de 15-35μ, are forma ovalara si prezinta 1 nucleu, *un manunchi de flageli si o membrana ondulanta cu ajutorul carora se deplaseaza* (*fig. 79*).

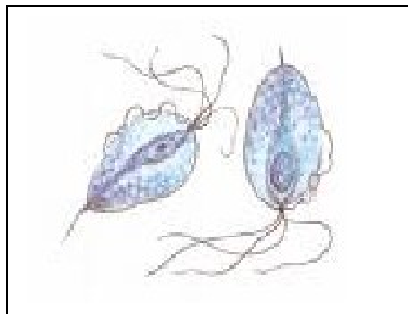


Fig. 79– Trichomonas vaginalis

- Disbacteriozele, infectiile cu anaerobi, alcalinizarea mediului vaginal, menstruatia, sarcina- favorizeaza atasarea si multiplicarea parazitului la epiteliul vaginal
- Local, **la femei**, apare un infiltrat inflamator asociat cu degenererarea si descuamarea mucoasei: severitatea bolii variaza de la starea asimptomatica pana la vaginite severe (prurit vulvo-vaginal, disurie, secretii spumoase, fetide, galben- verzui); la barbati,

parazitul se localizeaza in uretra si prostata, dar mediul de aici nu este prielnic multiplicarii si supravietuirii parazitului; doar in 10-20% infectia se soldeaza cu uretrita acuta.

Diagnosticul de laborator consta in evidentierea parazitului cu forma caracteristica in secretiile genitale

GENUL PLASMODIUM

Genul *Plasmodium* include mai multe specii implicate in etiologia **malariei (paludism):** *Pl. malariae, Pl. falciparum, Pl. vivax, Pl. ovalae*. In zona noastra geografica cel mai frecvent intalnita este specia ***Pl. vivax*** (*fig. 80*).

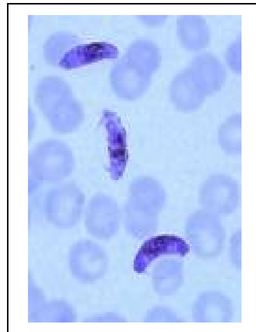


Fig. 80– Plasmodium vivax (MGG)

Dimensiunile si morfologia parazitului difera de specie si de stadiul de dezvoltare. *Aspectele morfologice caracteristice fiecarui stadiu de dezvoltare* stau la baza **diagnosticului de specie** cu ajutorul *microscopiei optice* (coloratia Giemsa a frotiului de sange sau a preparatului obtinut din „picatura groasa”).

Transmiterea parazitului se face prin intepatura facuta de tantarul anofel (numai femela este hematofaga). **Ciclul sexuat (sporo**gonoic**)** incepe in organismul infectat si se desavarseste in organismul tantarului care va inocula forma infectanta (**sporo**zoiti)

Gazda definitiva este omul; in organismul uman, formele parazitare inoculate de tantar, urmeaza **ciclul asexuat (schizogonic);** multiplicarea se face in mai multe etape incluse in 2 mari cicluri :

- **Ciclul exoeritrocitar (hepatic)**
- **Ciclul eritrocitar**

La incheierea acestor cicluri, celulele gazda (hepatocite si eritrocite) vor fi lizate, motiv pentru care in malarie apar:

- **hepatosplenomegalia** cu **sindrom de citoliza hepatica** (*fig. 81*).

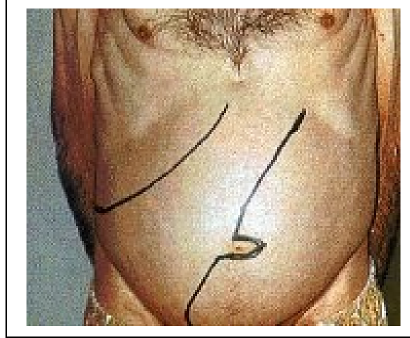


Fig. 81– Hepatosplenomegalia

- **anemie** (datorata hemolizei).

Inainte de ruperea hematiilor si eliberarea elementelor parazitare in sange, semnele clinice cele mai evidente sunt reprezentate de frisonul puternic si ascensiunea termica rapida. Accesele febrile au o ritmicitate caracteristica speciei de parazit. In plan secundar pot apare si alte manifestari mai putin caracteristice: cefalee, anorexie, manifestari digestive si chiar neurologice.

TOXOPLASMA GONDII

Toxoplasma gondii este agentul etiologic al **toxoplasmozei (*antropozoonoza*).**

- **Gazda definitiva** este **pisica**- care elimina in mediul extern oul (zigotul) de parazit; in mediul extern acesta se maturizeaza, rezultand forma infectanta: **oochistul** .
- **Gazda intermediara** este reprezentata e animale; accidental poate fi si omul; se intalnesc 2 forme ale parazitului : **forma vegetativa** (*fig. 82*) *s*i **chistul tisular**
    - Formele parazitare vegetative rezultate in urma diviziunilor din interiorul macrofagelor pot ajunge prin sange in orice zona din organism, patrunzand activ in orice celula nucleata; inmultirea lor intracelulara determina in final liza celulelor gazda si aparitia unui proces de necroza tisulara insotit de o inflamatie intensa.

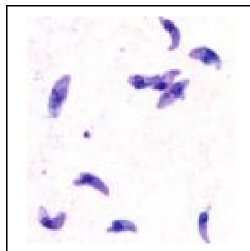


Fig. 82 – Toxoplasma gondii (forma vegetativa)

- Pe masura ce organismul dezvolta un raspuns imun, exista tendinta de a izola aceste focare necrotice, rezultand in final **chistul tisular** (creier, ficat, muschi, retina) (*fig. 83*).

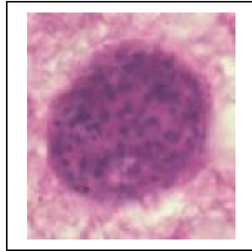


Fig. 83– Toxoplasma gondii (chist cerebral)

Transmiterea la om se face in 2 moduri:

- cale fecal- orala (ingerarea oochistilor excretati de pisica)
- cale transplacentara_- **toxoplasmoza congenitala** se caracterizeaza mai ales prin deficiente neuromotorii sau toxoplasmoza oculara (odata cu inaintarea in varsta a copilului apare corioretinita si orbirea)

Diagnosticul de laborator se bazeaza in mare masura pe utilizarea testelor ELISA, RFC pentru a pune in evidenta **anticorpii specifici antiToxoplasma gondii** de tip IgM si IgG. Monitorizarea gravidelor este deosebit de importanta, pentru scaderea riscului de a aduce pe lume copii cu malformatii si deficiente congenitale.

Testul **TORCH** este unul dintre cele mai complexe teste de monitorizare, deoarece pune in evidenta statusul imun al gravidei fata de agenti etiologici parazitari sau virali cu potential teratogen: **T**oxoplasma gondii, Virusul **r**ubeolic, **C**ytomegalovirusul, Virusurile **h**erpetice.

PNEUMOCYSTIS CARINII

- este un microorganism extracelular parazit al lumenului alveolar;
- produce **pneumocistoza** sau pneumonia interstitiala plasmocitara, fiind patogen doar in anumite conditii:
  - imunodeficiente (primare sau *secundare*: infectie cu *HIV, terapie imunosupresoare, boli anergizante*),
  - malnutritie protein-calorica;
- parazitul prezinta 3 forme care trec dintr-una in alta in cadrul ciclului biologic :
  - forma vegetativa (trofozoitul),
  - prechistul
  - chistul (*fig. 84*).



Fig. 84– Pneumocystis carinii (forme chistice)(col. Gomori)

Prin ruperea chistului, se elibereaza formele vegetative care de cele mai multe ori raman libere in lumenul alveolar, rar se ataseaza de celulele alveolare; in sufactantul alveolar pot exista forme vegetative fagocitate de catre macrofage sau PMN.

Transmiterea parazitului este interumana, pe cale aeriana; uneori infectia acuta poate fi consecinta reactivarii unei infectii latente.

Diagnosticul de laborator consta in**:**

- evidentierea parazitului (in sputa, biopsii pulmonare, lavaj bronhoalveolar, periaj bronhoalveolar) cu ajutorul coloratiei Giemsa sau prin Imunofluorescenta (IF) directa
- imunodiagnostic- se deceleaza si se titreaza anticorpii specifici antiPneumocystis carinii cu ajutorul tehnicilor ELISA si IF indirecta.

METAZOARE

HELMINTII

Viermii paraziti (***helmintii***) sunt incadrati in 2 Increngaturi:

- PLATHELMINTI si
- NEMATHELMINTI

INCRENGATURA PLATHELMINTI (*viermii plati*) cuprinde doua clase:

Clasa Trematoda- reprezentata de viermi plati care prezinta urmatoarele caractere comune:

- *au aspect foliaceu*
- *nu au cili*
- *prezinta una sau mai multe ventuze*
- *larvele lor sunt ciliate*
- *ciclul lor biologic presupune existenta unei gazde intermediare (molusca) si a unei gazde definitive.*

Cei mai importanti reprezentanti sunt: ***Fasciola hepatica*** (*fig. 85*)*, Dicrocelium lanceolatum si Opistorchis felineus.*



Fig. 85– Fasciola hepatica

Rezervorul natural al *Fasciolei hepatica* este reprezentat de omul bolnav, dar mai ales de animalele domestice: oaia, vitele, porcul, calul, cainele.

Parazitul se localizeaza in caile biliare, de unde va incepe sa elimine **oua neembrionate.** Odata cu materiile fecale, ouale ajung in mediul extern; pentru embrionare au nevoie de conditii prielnice oferite de apele baltilor.

Ciclul biologic continua in apa unde larvele aflate in diverse stadii de maturizare intalnesc gazda intermediara: melcul de apa. Omul si animalele se infesteaza prin consumul apei si a vegetatiei de pe malul apelor unde se gasesc formele infestante: **metacercarul.**

Diagnosticul de laborator consta in identificarea unei eozinofilii importante in paralel cu evidentierea oualor caracteristice in lichidul duodenal si in materiile fecale.

Diagnosticul serologic este important mai ales in perioada in care parazitul nu a ajuns la maturitate pentru a elimina oua; consta in identificarea anticorpilor antiFasciola hepatica in serul bolnavilor.

Clasa Cestoda

Cuprinde mai multi paraziti de importanta medicala grupate in mai multe familii:

- **Familia *Taeniidae*** cu reprezentantii sai: *Taenia solium, Taenia saginata, Echinococcus granulosus* (*fig. 86*).
- **Familia *Dyphilobotriidae***: *Dyphilobotrium latum.*
- Familia *Hymenolepidae*
- Familia *Dilepinidae*

Reprezentantii acestei clase au o serie de caractere comune:

- Corpul **turtit**, are o simetrie bilaterala

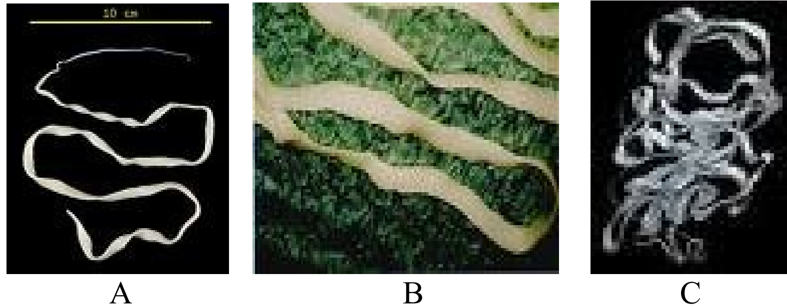


Fig. 86 – Taenia solium (A), Taenia saginata (B), Dyphilobotrium latum (C)

- Lungimea variaza de la 3 cm pana la 10-15m
- Parazitul adult prezinta un cap (**scolex**), un gat si un corp (**strobila**) (*fig. 87*).

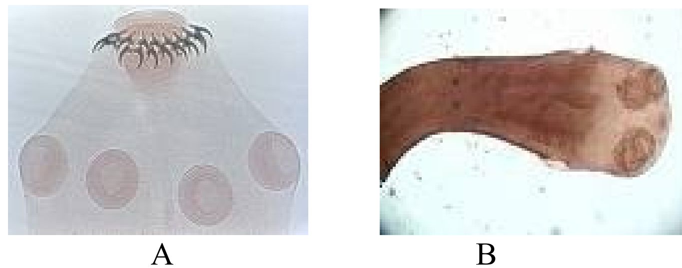


Fig. 87– Aspectul scolexului la Taenia solium (A) si Taenia saginata (B)

- Corpul este **segmentat,** fiecare segment avand o organizare hermafrodita; numarul de segmente (**proglote**) difera de la o specie la alta, fiind cuprins intre 3- 4000, functie de lungimea parazitului (*fig. 88*).

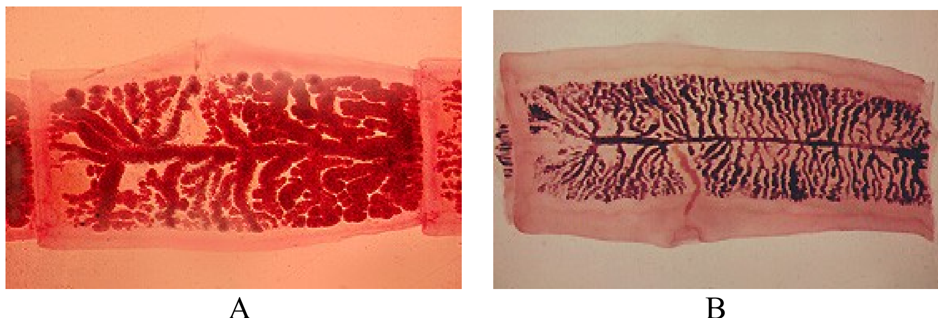


Fig. 88 – Proglota de T. solium (A) si T. saginata (B) (MO)

- Proglotele dinspre capatul liber sunt mature, uterul lor fiind plin cu oua (*fig. 89*).



Fig. 89– Aspectul oualor de Taenia saginata (MO)

- Localizarea predilecta a parazitului adult este la nivelul ileonului, rar la nivelul jejunului sau colonului;
- Atasarea parazitului laperetele intestinal se face prin diverse organe specializate, prezente la nivelul scolexului:
  - ventuze *(T. saginata)*
  - rostru cu carlige chitinoase *(T. solium)* (*fig. 90*).

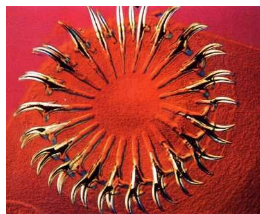


Fig. 90- Rostru cu carlige chitinoase (T. solium) (ME)

  - botridii laterale *(Diphylobotrium latum)*
- Strobila atarna liber in lumenul intestinal
- Tubul digestiv este absent, digestia facandu-se prin absorbtie la nivelul tegmentului (invelis extern rezistent).

INCRENGATURA NEMATHELMINTI

CLASA NEMATODE

INCRENGATURA NEMATHELMINTI (***viermii cilindrici***) cuprinde mai multe clase, dintre care importanta medicala o au parazitii din clasa ***Nematoda***; au in comun o serie de caractere:

a. Corpul este **cilindric,** prezentand simetrie bilateral (*fig. 92*).

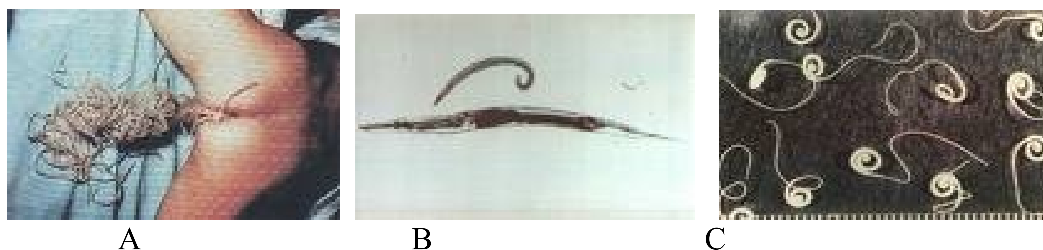


Fig.92 - Ascaris lumbricoides (A), Enterobius vermicularis (B), Trichuris trichiura (C)

b. Sunt acoperiti de o cuticula
c. Prezinta o musculatura longitudinala bine dezvoltata
d. Au o cavitate generala plina cu lichid perienteric
e. Prezinta tub digestiv complet
f. Au **sexe separate**, dimensiunile masculilor fiind in general mai mici decat ale femelelor
g. Functie de dezvoltarea larvara, nematodele pot fi:
    i. **Ovipare** (intestinale)- ***femelele depun oua*** din care ies larve, fara a necesita existenta unei gazde intermediare
    ii. **Vivipare** (tisulare) (*Trichinella spiralis*) - ***femelele depun larve***, necesita existenta unei gazde intermediare (*fig. 93*).

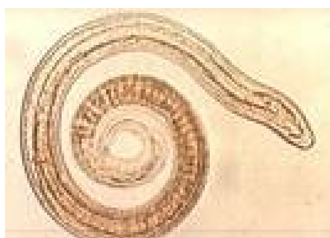


Fig.93 - Trichinella spiralis

Clasificarea Nematodelor

Familia	**Denumirea parazitozei**	**Specii reprezentative**
Familia Ascarididae	**Ascaridioza**	**Ascaris lumbricoides (”limbricul”)**
Familia Oxyurididae	**Enterobioza (oxiuraza)**	**Enterobius vermicularis (oxiurul, „viermisor”)**
Familia Tricocephalidae	**Trichocefaloza**	**Trichuris trichiura**
Familia Rhabditidae	Strongiloidoza	Strongyloides stercoralis
Familia Ancylostomidae	Ancylostoma duodenale Toxocara canis	Anchilostomiaza (**Larva migrans cutanata**)

	Necator americanus	**Larva migrans viscerala**
Familia Trichostrongyloides	Trichostrongiloidoza	Trichostrongyloidus spp
Familia **Trichinellidae**	**Trichineloza**	**Trichinella spiralis**
Familia Acanthocheilnamatidae	Filarioza bancoftiana (filarii)	Wuschereria bancrofti
Faqmilia Dracunculidae	Dracunculoza (filarioza de Medina)	Dracunculus medinensis (Filaria medinensis)

ECTOPARAZITII

Ectoparazitii sunt artropode hematofage. Principalii paraziti cu importanta medicala sunt:

Sarcoptes scabiei- produce scabia sau „raia”
Pediculidele (paduchii) au 2 specii importante:

- ***Pediculus humanus capitis***
- ***Pediculus humanus corporis***

Pthirus pubis
Pullex iritans
Glossinele

Sarcoptes scabiei

- insecta de talie mica (200-450 µ, vizibila doar cu lupa de mana in lumina oblica) care provoaca la om **scabia** (*fig. 94*).



Fig. 94– Sarcoptes scabiei

- corpul este transparent, plan- convex.
- Transmiterea se face prin contact direct, prin intermediul adultilor sau larvelor
- Dupa acuplare, femela sapa **galerii sinuoase epidermice** cu o viteza de aproximativ 2-3 mm/ zi; prefera zonele cu tegumentul mai fin (partea laterala a degetelor, plicile cotului, (*fig. 95*) axile, zonele inghinale, periombilical)



Fig. 95– Leziunile eritematoase din scabie

- In timpul inaintarii prin galerii, femela depune oua dar si excremente; larvele vor iesi din oua dupa 3-4 zile si-si vor continua dezvoltarea pe tegument
- Leziunile eritematoase ce apar sunt extrem de pruriginoase, fiind insotite de papule si vezicule care se vor acoperi treptat cu cruste;

Pediculidele

Din punct de vedere morfologic cele 2 specii se aseamana. Capul are doua antene, iar corpul este oval.

Locul de depunere al oualor de catre femele diferentiaza speciile in mod evident:

- ***Pediculus humanus capitis-*** depune ouale la baza firului de par (*fig. 96*).

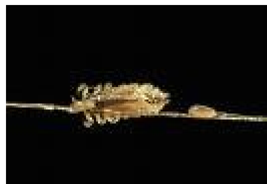


Fig. 96- Pediculus humanus capitis (adult si ou) pe un fir de par (40x)

- ***Pediculus humanus corporis*** (*fig. 97*) depune ouale pe imbracaminte (tivuri, cusaturi); daca imbracamintea nu este purtata, ouale mor.
- Dupa o succesiune de metamorfoze, nimfele iesite din oua, ajung la stadiul de adult hematofag.



Fig. 97- Pediculus humanus corporis

- La locul intepaturii, apare un prurit care va duce in final la aparitia leziunilor de grataj: zonele cele mai afectate sunt : ceafa, umerii si trunchiul.

Transmiterea acestei parazitoze se face prin contact direct cu o persoana afectata sau prin utilizarea in comun a asternutului sau a lenjeriei de corp.

***Pediculus humanus corporis*-** este vector al unor boli foarte grave, in timpul pranzului hematofag preluand sange infectat, respectiv inoculand unei persoane sanatoase sange incarcat cu diversi agenti bacterieni:

- *Rickettsia prowaseki*- agentul etiologic al tifosului exantematic
- *Rickettsia quintana*- agentul etiologic al febrei de transe
- *Borellia recurentis*- agentul etiologic al febrei recurente.

CARACTERE GENERALE SI STRUCTURA VIRUSURILOR

Virusurile sunt *microorganisme submicroscopice*, cu diametrul de **ordinul nm** (*10^{-9}m*); dimensiunile lor fiind de 1000 ori mai mici decat ale bacteriilor (*care au dimensiuni de ordinul micronilor/10^{-6} m*).

Virusurile nu vor putea fi retinute de catre filtrele utilizate in mod normal pentru sterilizarea lichidelor termolabile; acest lucru a justificat denumirea initiala a virusurilor de **agenti filtrabili**.

Dimensiunile virusurilor sunt variabile**,** incepand cu **20-30 nm (*Pico*RNAvirusuri**), pana la **300nm (***Poxvirusuri*).

Electronomicroscopic, se observa ca structura virusurilor este mult simplificata comparativ cu a celulelor:

- in timp ce **celulele** (***eucariote** si **procariote***) au in structura:
  - **membrana celulara,**
  - **citoplasma,**
  - **ADN si**
  - **organite celulare** care *permit sinteza proteinelor structurale si functionale care asigura supravietuirea si multiplicarea acestora*,

- **virusurile** sunt *mai simplu structurate* (*fig. 98*):
    - in centru se gaseste **acidul nucleic** (***ADN** sau **ARN***),
    - inconjurat de structuri proteice care formeaza **capsida** virala cu simetrie variabila (*cubica, hexagonala…*);

        aceste doua structuri constituie impreuna **nucleocapsida,**
    - *unele* virusuri mai au la suprafata un *invelis suplimentar* numit **anvelopa** cu o *compozitie complexa***;**
    - *glicoproteinele* virale de la suprafata virionului au *rol in atasare la structurile tinta sau la suprafata hematiilor* (*proprietate utila in identificarea virusurilor prin fenomenul de hemadsorbtie si hemaglutinare, respectiv hemaglutinoinhibare*);

        aceste structuri pot avea si alte roluri, ca *antigenicitatea*, detinand un *rol major in raspunsul imun*.

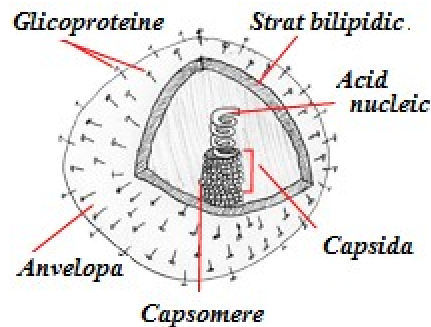
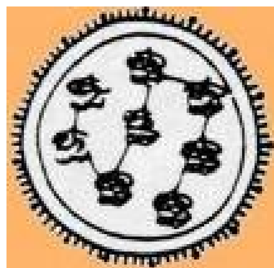
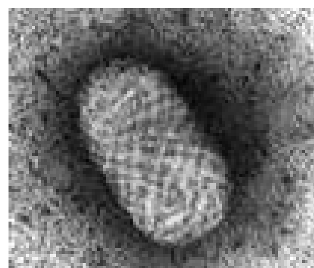
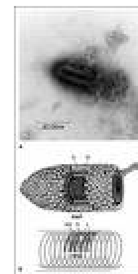


Fig. 98– Structura generala a virusurilor

Forma virusurilor este variabila (*fig. 99*): *sferica* (*cu prelungiri butonate: Orthomyxovirusuri, Paramyxovirusuri*), *bastonas*, *prismatica* (*Poxvirusuri*), *obuz* (*Rhabdovirusuri*).

A B C

Fig. 99- Formele virusurilor: sferica (A), bastonas (B), obuz (C)

Denumirea de **virion** se atribuie *particulei virale mature, infectioase*; este *forma de existenta extracelulara* a virusului.

Replicarea (***multiplicarea virusurilor***):

- se poate efectua **doar in structuri vii**, deoarece **virionul** este **inert** din punct de vedere **metabolic**, neavand organite celulare care sa sintetizeze proteinele; pentru a se putea multiplica virionul are nevoie de metabolismul unei celule vii;
- formarea de noi virioni se realizeaza in celulele infectate;
- metabolismul celulei gazda este „*deturnat*" in favoarea sintezei proteinelor virale.

Replicarea virusurilor urmeaza o *succesiune de evenimente*:

1. virusurile **recunosc receptorii specifici** de la suprafata celulelor tinta;
2. **penetrarea** virionului in citoplasma se face prin:
    a. endocitoza (*viropexie*) sau
    b. prin fuziunea anvelopei cu membrana celulara activata a gazdei;
3. urmeaza **decapsidarea virionului** cu eliberarea acidului nucleic;
4. acidul nucleic in functie de natura sa, poate urma una din urmatoarele cai:
    a. se poate *integra* ca atare in genomul gazdei (*virusurile cu ADN*),
    b. se poate integra in genomul gazdei dupa *reverstranscrierea *ARN in ADN* in prezenta unei enzime: **reverstranscriptaza** (*de exemplu retrovirusurile: HIV*);
    c. poate ramane *liber in citoplasma* (*unele virusuri cu ADN si majoritatea virusurilor cu ARN*).
5. are loc **replicarea** acidului nucleic:
    a. odata cu cel al gazdei sau
    b. independent;
6. in paralel are loc **transcriptia** ADN viral sau ARN viral in **ARNm**;
7. prin **traducerea mARN,** se **sintetizeaza proteinele** structurale si functionale;
8. are loc **asamblarea intracelulara a virionilor** (*intracitoplasmatic sau intranuclear*) si **invelirea** lor (*virusurile cu anvelopa*);
9. *i*n final virionii gata asamblati vor fi **eliberati** din celula prin ***liza celulara*** sau ***exocitoza*** (*inmugurire, fara liza*);
10. virionii **vor invada alte celule** si **procesul se reia**.

Neavand metabolism propriu, **virusurile nu pot fi cultivate pe medii de cultura artificiale.**

In laborator izolarea virusurilor se face in *sisteme vii* reprezentate de**:**

- *animale de laborator* (*maimute, iepuri, cobai, soricei…*)
- ou embrionat de gaina,
- culturi de celule, care pot fi: **culturi primare** (*tesuturi: rinichi de maimuta*)**,** **celule diploide** (*embrionare*) si **linii celulare** (*derivate din tesuturi tumorale*).

Nomenclatura virusurilor

La denumirea **Familiei** se adauga sufixul **„viridae**”, iar cand se denumeste **Genul** se adauga sufixul ”**virus”.**

Clasificarea virusurilor presupune existenta unor criterii de includere in aceeasi *Familie*:

- natura acidului nucleic (*ADN sau ARN*),
- simetria capsidei,
- prezenta sau absenta anvelopei.

In functie de *acidul nucleic*:

- virusurile cu **ADN** se numesc **Dezoxiribovirusuri**,
- cele cu **ARN** se numesc **Ribovirusuri.**

In functie de *prezenta anvelopei:*

- virusurile **fara** anvelopa sunt **neinvelite**,
- cele **cu** anvelopa sunt **invelite**.

Principalele Familii de virusuri implicate in patologia umana sunt:

Familia	**Principalele Genuri, Specii**
Papovaviridae	Papillomavirus
Hepadnaviridae	Virusul **hepatitei B**
Adenoviridae	Adenovirusuri
Herpesviridae	**Herpesvirus de tip 1 si 2**, Varicella-Zoster virus, Virusul Epstein-Barr, Virusul Citomegalic, Virusul limfotropic uman
Orthomyxoviridae	Virusurile gripale A, B, C
Paramyxovirusuri	Virusul rujeolic, Virusul urlian, Virusul sincitial respirator, Virusurile paragripale
Rhabdoviridae	Virusul rabic
Picornaviridae	Enterovirus 72, Virusurile polio, Virusurile Coxsackie, ECHO, Rhinovirusuri
Retroviridae	Oncovirusuri , **HIV**

Transmiterea virusurilor se poate face pe mai multe cai:

1. **Direct**:
    a. **contact sexual** (*virusurile hepatitelor B, C, D.., virusul HIV, virusurile Papilloma, Virusurile Herpes Simplex tip 2 si uneori de tip1…*),
    b. **sarut** (*Virusul Epstein Barr, agentul etiologic al Mononucleozei infectioase, denumita si „boala sarutului*”),
    c. **maini murdare, alimente** (*Virusul hepatitei A- epidemice*),
    d. **aerosoli** (*virusurile cu tropism respirator: Virusurile gripale si paragripale, Virusul Sincittial Respirator, Virusul urlian, Virusurile Coxsackie, Virusul Epstein –Barr, Virusul varicella-Zoster…*)
    e. **muscatura de animal** (*virusul rabic*),
    f. **saliva**: *virus urlian* (*oreion*), *virus rabic* (*turbarea*),
    g. **cale hematogena**: transfuzii, de la mama la fat (*transplacentar*), **manopere invazive (***operatii chirurgicale, injectii, manopere stomatologice, tatuaje, acupunctura, gaurirea lobului urechii…*) si **transplant de organe** (*virusurile hepatitelor B, C, D.., virusul HIV, Cytomegalovirus*).
2. **Indirect:**
    a. **prin vectori** (*artropode*)
    b. prin intermediul **obiectelor de uz curent.**

Sursa de infectie poate fi reprezentata de:

a. **bolnavul acut** in diferite stadii de evolutie,
b. **bolnavul cronic** (*infectia cu HIV, cu Virusul hepatitei B, C, D*),
c. **purtatorul aparent sanatos**,
d. **boala atipica, abortiva, frustra** (*virusul urlian*),
e. **animale**.

Stadiile infectiei virale sunt variabile**:**

- **perioada de incubatie** (*de cele mai multe ori nespecifica, insotita de un prodrom*),
- **perioada de invazie** (*cand apare febra, eventual frisonul*),
- **perioada de stare** cand apar simptomele caracteristice,
- **perioada de convalescenta,** *care poate evolua spre:*
    - *vindecare,*
    - *cronicizare* sau
    - *deces.*

Din *considerente practice* in continuare vor fi descrise doar virusurile implicate in patologia umana.

Familia Herpetoviridae include **6 tipuri de virusuri**:

- ***Herpes simplex tip 1*** (*HSV-1*),
- ***Herpes simplex tip 2*** (*HSV-2*),
- ***Virusul Varicella-Zoster*** (*VZV*),
- ***Virusul Epstein-Barr*** (*EBV*),
- ***Cytomegalovirus*** (*CMV*),
- ***Virusul limfotropic uman*** (*LHV*).

Caracterele generale ale acestei familii:

- sunt virusuri **cu ADN invelite**,
- produc **infectii litice** in **celule epiteliale** (*VHS-1 si 2, VZV- virusuri neurotrope*) si **infectii latente in neuroni** (*VEB, CMV si LHV- virusuri limfotrope*).

HSV tip1 se transmite prin **contact di**rect (*secretii nasofaringiene, „gura- gura”, „gura- piele”*).

HSV-2 se transmite mai ales pe cale sexuala (*se produc infectii cu localizare genitala, ano-rectala, mai rar orofaringiana*);

Din punct de vedere **clinic**, **HSV tip 1**, produce:

- *stomatite herpetice, gingivostomatite, amigdalite, leziuni labiale* (*fig. 100*),
- *eczema herpetica,*
- *panaritiu herpetic,*
- *keratoconjunctivite,*
- *encefalite*.



Fig.100 – Herpes labial

HSV tip 2, produce urmatoarele infectii:

- *cu localizare genitala*
- *meningite,*
- *stomatite*.

Infectia poate fi:

- *inaparenta clinic*, sau
- cand se *manifesta clinic*, apar **leziuni veziculare**:
    - lichidul fiind plin cu **virioni**;
    - virionii invadeaza celulele epiteliale adiacente si filetele nervoase din zona;
    - ajung in nucleul neuronal, se declanseaza *infectia latenta*; ulterior, in *anumite situatii* (*stress emotional, expunere la soare, ciclu menstrual, febra, traume*…), virusurile latente *se pot activa* si prin filetele nervoase ajung din nou la suprafata tegumentului producaand leziuni litice (*dermatoame*).

Herpesul genital – are o perioada de incubatie de 2- 20 zile; *herpesul primar* se caracterizeaza prin aparitia de leziuni tipice mici, **papule**- vezicule situate la barbat la nivelul glandului, penisului (*fig. 101*) si ocazional in uretra, iar la femeie la nivelul vulvei, vaginului, cervix, perianal.

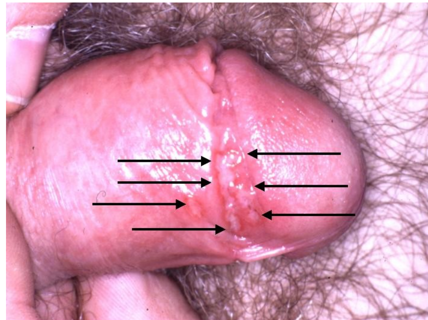


Fig.101 – Herpes genital

Infectiile recidivante (*recurente*) - pot fi asimptomatice, putand fi insotite de un *prodrom* reprezentat de sensatie de arsura in zonele in care vor aparea leziunile.

Femeile raspandesc virusul prin *secretiile genitale*; daca virusurile sunt prezente in cervixul *gravidelor*, infectia se poate transmite fatului *in timpul viremiei* materne din infectia primara, *ascendent* in uter sau in *timpul travaliului.*

Keratitele herpetice (*fig. 102*) pot fi insotite de tulburari ale acuitatii vizuale.

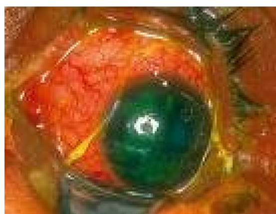


Fig. 102– Keratita herpetica

Gingivostomatitele herpetice (*fig. 103*) sunt *leziunile veziculare initiale* (*de la nivelul gingiilor, mucoasei labiale, palatului, limbii, faringelui…*) care devin *ulcerative*.

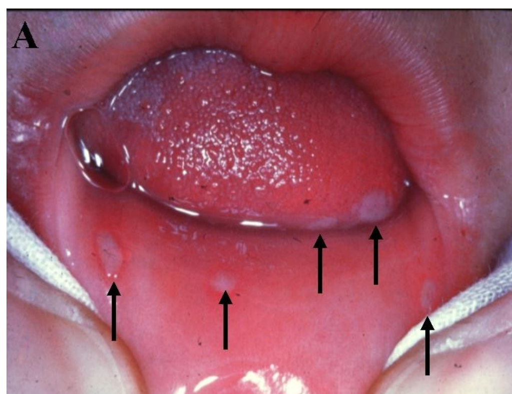


Fig.103–Stomatita herpetica

Panaritiul herpetic (*fig. 104*) este infectia periunghiala ce apare mai ales la copii si la personalul medical.



Fig.104 – Panaritiu herpetic

Eczema herpetica (*fig. 105*) apare mai ales la copii si frecvent se suprainfecteaza bacterian; infectia poate disemina si sa se generalizeze.



Fig.105 – Eczeme herpetice

Profilaxia

Cea mai frecventa **cale de transmitere** este prin **contactul cu leziunile muco-cutanate** si **secretiile orofaringiene** (*mai ales pentru HSV1*) si **sexuale** (*mai ales pentru HSV2*); ***personalul cu risc crescut*** este reprezentat de *medici, asistente, cosmeticiene, stomatologi…*

Utilizarea manusilor de protectie poate preveni infectarea degetelor. Pacientii cu *herpes genital* vor fi instruiti sa evite contactul sexual neprotejat in perioada prodromului sau cand au leziuni.

Virusul Varicella-Zoster (VZV)

Cauzeaza **varicela** (*infectie primara a copilariei, mai rar la adulti*) si **Zona-Zoster** (*infectie recurenta, cu aparitie sporadica la adulti*).

Varicela

Se transmite pe cale respiratorie si se caracterizeaza prin febra, frisoane, faringita si aparitia unei *eruptii generalizate (enantem si exantem)* (*fig. 106*) reprezentata de valuri succesive de leziuni pruriginoase care evolueaza de la ***macula la papula, la vezicula iar in final apare crusta***; din cauza leziunilor de grataj, uneori veziculele se pot suprainfecta si se transforma in pustula (*in evolutia naturala nu apare pustula*).



Fig. 106– Exantemul din varicela

Virionii pot ramane in *stare latenta in neuroni* (*mai ales din ganglionii dorsali si ai nervilor cranieni*) si sa produca infectii recidivante caracteristice Zonei-Zoster (*leziuni veziculare la nivelul tegumentului suprajacent filetului nervos- in general unilateral*) (*fig. 107*). Dupa disparitia eruptiei, poate ramane un ***sindrom dureros cronic*** (*nevralgie postherpetica care persista luni de zile*).



Fig. 107– Zona Zoster

Virusul Epstein -Barr

Este agentul etiologic al **mononucleozei infectioase** (*MNI- in zona noastra geografica*), **limfomului Burkitt** (*in Africa*) si a **carcinomului nazofaringian** (*in China*); poate fi implicat in etiologia **limfomului B** la pacientii cu imunodeficiente dobandite sau congenitale; unii autori il incrimineaza in etiologia *sindromului oboselii cronice*.

Virusul infecteaza *primar celulele epiteliale* (*nazofaringe si orofaringe*) si *secundar limfocitele B* unde ramane in stare latenta.

Transmiterea se face prin aerosoli si prin contact direct al mucoasei bucale cu saliva celui infectat (*de aici si denumirea de „boala sarutului*”).

In timpul *viremiei* sunt *infectate limfocitele B*, ceea ce determina aparitia unor *modificari nucleo-citoplasmatice* (*limfo-monocite*), vizibile la microscopul optic pe preparatele colorate Giemsa.

Din punct de vedere **clinic**, mononucleoza infectioasa se caracterizeaza prin febra, stare generala alterata, faringita, limfadenopatie, hepatosplenomegalie. Creste numarul de leucocite (*10.000-80.000/mmc*), cu predominenta limfocitelor si monocitelor in formula leucocitara.

Diagnosticul clinic este dublat de cel *serologic*: prin **reactia Paul- Bunell- Hanganutiu** se pun in evidenta *anticorpii heterofili* din serul pacientilor (*anticorpi care pot apare si in alte situatii, de exemplu in boala serului*) si prin detectarea *anticorpilor anti- CMV*.

Cytomegalovirusul

Se transmite pe cale sanguina (*transfuzii, hemodializa, transplacentar*) sau in urma transplantului de organe si se raspandeste de la celula la celula; ramane in stadiu latent in celulele mononucleare; poate induce o *imunodepresie tranzitorie*, dar in acelasi timp in conditii de *imunosupresie* se poate *reactiva*.

Din punct de vedere ***clinic***, manifestarea cea mai grava este reprezentata de **boala incluziilor citomegalice** a noului nascut (*hepatosplenomegalie cu icter si anemie hemolitica; in cazul supravietuirii se noteaza deficiente semnificative: microcefalie cu retard mintal, anomalii de crestere*). Infectia posttransfuzionala reproduce clinic mononucleoza infectioasa.

Papillomavirusurile

- sunt *virusuri cu ADN, invelite*;
- induc *proliferari epiteliale si mucoase benigne* (*papiloame, negi sau veruci*);
    - la copii, cele mai frecvente *localizari* ale *verucilor* sunt: *palmare* si *digitale*;
    - la adulti, determina:
        - condiloame ale organelor genitale externe;
        - papiloame orale, laringiene, conjunctivale;
        - negi ano-genitali (*fig. 108*);
        - dispazii de col uterin, cu posibila progresie spre carcinom;
    - frecvent regreseaza spontan; rar evolueaza spre carcinoame;
- pot cauza conversia maligna a unor leziuni preexistente.



Fig.108 – Negi genitali (stanga) si anali (dreapta)

Familia Picornaviridae

- este reprezentata de *virusuri mici*, cu *ARN, citololitice*;
- cuprinde 2 genuri cu importanta medicala:
    - *Rhinovirusuri* si
    - *Enterovirusuri*.

Rhinovirusurile

- **transmiterea** prin *contact direct* sau *aerosoli*;
- determina infectii cu *localizare stricta la nivelul arborelui respirator*;
- din punct de vedere **clinic**, determina un *sindrom pseudogripal* (*asemanator cu cel determinat de V. gripale, V. paragripale, Virusul Sincitial Respirator – VSR si Adenovirusuri*) caracterizat prin: *rinoree, stranut, obstructie nazala, cefalee, stare generala alterata*.
- frecvent, se suprapune o suprainfectie bacteriana care complica tabloul clinic; se produc: *otite, sinuzite, bronsite, pneumonii*.

Enterovirusurile sunt reprezentate de:

- *Virusurile Polio,*
- *Virusurile Coxsackie,*
- *Virusurile ECHO,*
- *Enterovirusul72* (*Virusul Hepatitei tip A/HAV- vezi virusurile hepatitelor virale*).

Virusurile Polio

- au *poarta de intrare tracturile digestiv* si *respirator*;
- din punct de vedere **clinic**, se disting:
    - *infectii asimptomatice* (*90% din cazuri*);
    - *infectii abortive* (*simptomatologia este nespecifica*);
    - in meningitele aseptice, *infectia neparalitica;*
    - in 0.1 - 0.2 % din cazuri se produce **poliomielita** (*fig. 108*); in urma *multiplicarii virusului* in *formatiunile limfatice faringiene* si *intestinale*, se produce *o viremie* care se finalizeaza cu *fixarea virusului in neuronii motori ai SNC* (*la nivelul coarnelor anterioare ale maduvei si a nucleilor motori din trunchiul cerebral si cerebel*); se produc *leziuni litice*, *ireversibile* care se traduc clinic prin paralizie flasca asimetrica in teritoriul deservit de neuronii afectati (*membre inferioare, faringe, corzi vocale, musculatura respiratorie*).



Fig. 108– Sechele dupa poliomielita

Virusurile Coxsackie

- sunt implicate in infectii cu diferite localizari:
    - *sistem nervos*: *meningite, encefallite, paralizii*,
    - *sistem cardiovascular*: *miocardite, pericardite insotite de pleurodinie*,
    - *aparat respirator*: *herpangine*(*fig. 109*),

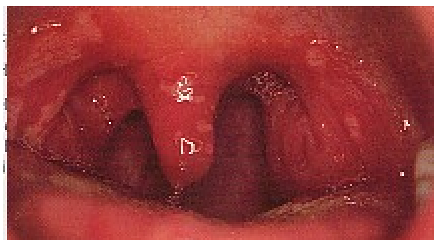


Fig.109 – Herpangina

- *tub digestiv*: *diaree, diabet zaharat*,
- *conjunctive*: *conjunctivite hemoragice* (*fig. 110*),



Fig.110 - Conjunctivita hemoragica

- *malformatii fetale*.

Virusurile ECHO (*Enteric Cytopathogenic Human Orphan*)

- afecteaza mai ales copiii;
- calea de patrundere este digestiva;
- poate induce: *meningite aseptice*, *conjunctivite*, *reactii febrile*.

VIRUSURI CU ARN

Familia Orthomyxoviridae

Familia Orthomyxoviridae include cele 3 **tipuri antigenice** (***A,B,C***) de *virusuri gripale*, primele doua avand implicatii majore in patologia umana; sunt virusuri **invelite** cu genom **ARN**; **capsida** are *simetrie helicoidala*;

Anvelopa prezinta *structurile antigenice specifice de suprafata*:

- **H - hemaglutinina**
  - are rol in *atasarea virusului la receptorii specifici* (*de la nivelul epiteliul respirator, hematiilor umane si de cocos*);
  - determina aparitia *serotipurilor de virus gripal* (*H1, H2, H3*);
  - *variatiile antigenice minore* („***drift***") determina aparitia ***epidemiilor***, la interval de 2-3 ani, cu *serotipuri ale virusurilor de tip A si B*;
  - variatiile antigenice majore („***shift***") determina aparitia ***pandemiilor***, la intervale de aproximativ 10 ani;
- **N - neuraminidaza**
  - este o structura antigenica, cu variantele *N1, N2*;
  - are rol in atasare si enzimatic;

Existenta variantele H si ***N*** explica aparitia unor **subtipuri virale** *antigenic distincte*: ***H1N1***, ***H1N2***, ***H2N1***, ***H2N2***, ***H3N2***…

Din punct de vedere **clinic**, **gripa** se caracterizeaza prin:

- stare generala alterata, cefalee, febra brusca, mialgii severe, tuse neproductiva,
- *modificarile celulelor epiteliale* induse de virusuri, predispun la *infectii secundare bacteriene* cu *Str. pneumoniae*, *Haemophillus influenzae*, *St. aureus*;
- complicatiile (*pneumonii, otite, encefalopatii*…) pot apare dupa 3-4 zile, mai ales la varste extreme si la persoane cu *afectiuni cardio-vasculare* sau *imunocompromise*.

Familia Paramyxoviridae, cuprinde 3 genuri:

Gen	*Reprezentanti*
Morbillivirus	Virusul rujeolei
Paramyxovirus	Virusurile paragripale 1-4 Virusul parotiditei epidemice/ virusul urlian
Pneumovirus	Virusul sincitial respirator (VSR)

Virusul rujeolei

Este agentul etiologic al **rujeolei** (***pojar***), care este *o boala infecto - contagioasa a copilariei*, cu *caracter endemo-epidemic*;

- *perioada de incubatie* este de 10-12 zile; *debutul* este caracterizat de aparitia *febrei*, *fenomenelor catarale*, *eruptie maculo- papulara* (*fig. 111*) initial la *nivel retro- auricular*, ulterior *generalizata („coboara" pe trunchi si pe membre, lasand zone indemne intre placardele maculo- papulare*); *adenopatia* este generalizata; in final tegumentul ramane pigmentat, cu o *descuamare furfuracee*;



Fig.111 – Eruptia maculo-papulara din rujeola

- *complicatia* cea mai frecventa reprezentata de *bronhopneumonie*;
- virusul poate ramane in stare latenta in SNC (*virus rujeolos defectiv*) si sa determine mult mai tarziu *encefalita post-infectioasa* sau *panencefalita necrozanta subacuta*.

Virusurile paragripale

- dintre cele *4 tipuri patogene pentru om*, *virusurile 1-3* suprainfecteaza celulele deja infectate de *VSR*, iar tipul 4 determina infectii respiratorii primare; *transmiterea* virusurilor se face prin *aerosoli*;
- initial infectia este inalta (*rinite, rinofaringite*); in anumite situatii, infectia coboara si pot apare: *crup* (*laringo- traheo- bronsita*), *bronsite*, *pneumonii*;

- *imunitatea naturala* este *slab protectiva*, ceea ce explica *posibilitatea reinfectiei* la scurt timp, cu acelasi serotip sau alte serotipuri.

Virusul parotiditei epidemice (*virusul urlian*)

- agent etiologic al **parotiditei epidemice** (***oreion***) (*fig. 112*), este o boala infecto - contagioasa, in care *tabloul clinic* este dominat de *hipertrofia parotidelor* (*uni- sau bilateral*);



Fig.112 – Hipertrofia glandei parotide in oreion

- structura tinta este reprezentata de *componenta exocrina a glandelor*:
    - *parotide*,
    - *gonade* (*ovar- ooforita*, *testicol- orhita*); *complicatia* de temut este *sterilitatea masculina,* in situatia in care infectia survine la varsta adulta;
    - *pancreas* (*virusul este implicat in etiologia diabetului juvenil*);
- *sistemul nervos central* (*meningoencefalite*) si a celui *periferic*.

Virusul sincitial respirator (*VSR*)

- determina *infectii respiratorii acute* cu *evolutie fatala* mai ales la copiii mici;
- produce *infectii respiratorii cu localizare inalta* (*rinite, faringite febrile*) sau *joase* (*necroza bronhiilor si a bronhiolelor, prin efect citopatogen direct*).

VIRUSURILE HEPATITELOR

Virusul hepatitei A (HAV)

Este un ***Picornavirus***, catalogat initial ca fiind un *Enterovirus 72*; ulterior s-a conchis ca face parte din *Genul Hep**arn**aviridae.*

Este un virus cu ARN *neinvelit* (*fig. 113*).

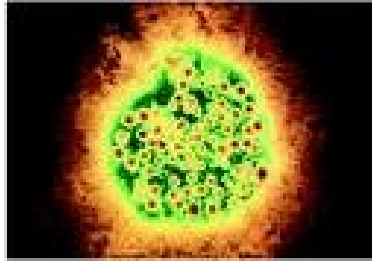


Fig.113 – Virusul hepatitei A

Hepatita A este o infectie cu **caracter epidemic**, fiind cunoscuta ssi sub denumirea de *„boala mainilor murdare"; transmiterea se face asadar prin intermediul apei, alimentelor contaminate si direct prin intermediul obiectelor si a mainilor murdare.*

Perioada de incubatie este de 2-6 saptamani.

Replicarea virusului se face in epiteliul intestinal, dupa care se produce o viremie tranzitorie; organul tinta este ficatul (*hepatocitele si celulele Kupfer*); se produce o multiplicare rapida, cu eliberarea virionilor in bila si apoi prin materiile fecale in mediul extern cu aproximativ 10 zile inainte de aparitia primelor simptome.

Severitatea hepatitei A este medie (*doar 0.5% din cazuri sunt fulminante*).

Nu se cronicizeaza.

Diagnosticul de laborator se pune prin identificarea **Ag HAV** in materiile fecale si in bila, precum si a **Ac anti HAV** (*IgM si IgG*) in serul bolnavilor.

IgG anti HAV sunt protectivi pentru o noua reinfectie.

Prevenirea si controlul se face prin:

- Spalarea mainilor frecvent si mai ales inainte de servirea mesei,
- Clorinarea apei si a grupurilor sanitare,
- Izolarea bolnavilor declarati,
- Evitarea consumului de apa si alimente contaminate,
- Imunoprofilaxia contactilor cu Ig serice (eficienta 80- 90%).

Virusul hepatitei B (HBV)

Face parte din *Familia Hep**adn**aviridae*, fiind un **virus cu ADN, invelit** (*fig. 114*)**;**

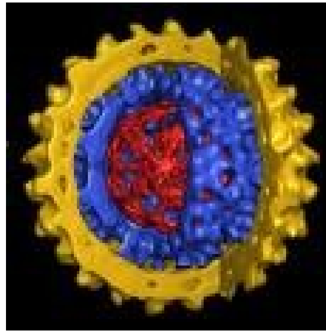


Fig. 114– Virusul hepatitei B

Se poate prezenta ca:

- **particula completa (*particula Dane*)** (*nucleocapsida si anvelopa*)- ce poate lua o forma *sferica* (*22nm*) sau *filamentoasa* (*22/ 200nm),*
- **particula incompleta** (*lipsita de acid nucleic*) - formata exclusiv din **AgHBs.**

Capsida prezinta doi constituienti antigenici majori:

- **Ag Hbe** si
- **Ag HBc;**

Anvelopa prezinta un *Ag de suprafata***: Ag HBs,** cunoscut si sub denumirea de **Ag Australia** - unul dintre cei mai utilizati markeri in diagnosticul hepatitei cu virus B.

Ag HBe rezulta din liza intracelulara a **Ag HBc**, prin urmare **Ag HBc nu** va putea fi detectat **in circulatie**.

Virusul hepatitei B **se transmite:**

- pe cale sexuala,
- transplacentar (*de la mama la fat*),
- posttransfuzional,
- in urma unor manopere invazive (*prin ace de seringa, extractii dentare, operatii chirurgicale, gaurirea lobului urechii, tatuaje, acupunctura…*)

Perioada de incubatie este de 4-26 de saptamani.

Organele tinta sunt **ficatul** (*hepatocitele si celulele Kupfer*) si **pancreasul**;

Evolutia poate fi *favorabila* cu regenerarea parenchimului hepatic; indivizii care au ramas cu Ag HBs pozitiv pe o perioada mai lunga de 6 luni, poarta denumirea de **purtatori cronici**; *25% au o evolutie severa* spre:

- *cronicizare*,
- *ciroza* (*5-10% din cazuri*) si chiar
- *carcinom hepatocelular* (*80 % au la baza o hepatita cronica tip B*).

Infectia concomitenta (**coinfectia**) sau **suprainfectia** cu **virusul hepatitei D** (*particula virala defectiva*) determina o evolutie mai rapida spre cronicizare;

Diagnosticul de laborator se pune prin identificarea:

- **markerilor virali** din **serul pacientilor**:
  - **Ag HBs,**
  - **AgHBe** (*prin teste ELISA*); Atentie! **Ag HBc** nu poate fi detectat decat in tesutul hepatic;
  - **ADN**-viral (*prin PCR- reactia de polimerizare in lant*);
- **markerilor serici**: **Ac anti HBs, Ac anti HBc, Ac anti Hbe**;
- **metode nespecifice**:
  - *enzimatici:* **GOT, GPT**
  - teste ce pun in evidenta tulburarile *metabolismului pigmentilor biliari* (**UBG**)
  - teste de *disproteinemie* (*scade fractiunea albuminica si cresc fractiunile **β** si **γ** globulinica*).

Virusul hepatitei C (*NANB HV*)

- apartine Familiei Flaviviridae, fiind un virus cu **ARN,** invelit (*fig. 115*),



Fig. 115– Virusul hepatitei C (hepatita nonA- nonB)

- determina *hepatita de tip C*, cunoscuta si sub denumirea de ***hepatita nonA- nonB***
- **perioada de incubatie** este de 2-20 saptamani,
- **calea de transmitere:** contact sexual si parenteral (*transfuzii, manopere invazive, transplacentar*),

- **evolutia** este de cele mai multe ori subclinica, extrem rar are o evolutie fulminanta; 10-50% din infectii evolueaza spre **cronicizare**,
- **diagnosticul de** laborator consta in identificarea si dozarea **Ac anti HCV** si detectarea **ARN viral** (*prin **PCR***).

Virusul hepatitei D

- apartine *Familiei Togaviridae*; fiind un **virus incomplet**, *nu se poate multiplica decat in prezenta virusului hepatitei B* (*coinfectie sau suprainfectie*),
- **perioada de incubatie** este de 4-8 saptamani;
- **modalitatile de transmitere** sunt similare cu cele de transmitere ale virusului hepatitei B,
- **severitatea** infectiei este foarte crescuta,
- **cronicizarea** se produce in 2-5% din cazuri in coinfectii si in 90% din cazuri in suprainfectii ale virusului hepatitei B;
- **diagnosticul de laborator** se bazeaza pe identificarea markerilor specifici **hepatitei B,** concomitent cu decelarea markerilor **hepatitei D** (*Ag HDV, Ac anti HDV, ARN- viral*).

Infectia cu HIV

(*H*uman *I*mmunodeficiency *V*irus*- Virusul imunodeficientei umane dobandite*)

Boala indusa de **HIV** a fost descrisa pentru prima data in anul 1981 si a fost denumita **SIDA** (**S**yndrome d'**I**mmono**d**efience **A**cquise) sau **AIDS** (**A**cquired **I**mmuno**d**eficiency **S**yndrome). HIV este un **Retrovirus latent**, cu *perioada lunga de incubatie* (*7-8 ani*).

Virusul HIV1 (*fig. 116*) a fost izolat pentru prima data in anul 1983 de o echipa de cercetatori francezi condusa de *Montagnier*. In anul *1984*, *Gallo & colab* (*SUA*) izoleaza acelasi virus.

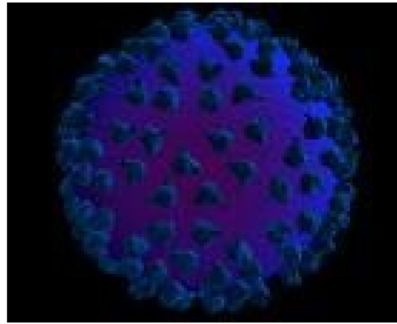


Fig. 116– Virusul imunodeficientei umane

Structura virusului:

- **miezul** este format din doua catene identice de **ARN** si subunitati ale **reverstranscriptazei** (*enzima cu rol in transcriptia ARN viral in ADN care va fi ulterior integrat in genomul celulei gazda*);
- **capsida** – prezinta doi determinanti antigenici majori, utili in diagnosticul de laborator (***p24*** *si* ***p25***),
- **anvelopa -** prezinta mai multi determinanti antigenici majori (***gp120, gp41*** *si* ***p18,*** *unde* ***gp*** *sunt glicoproteine si* ***p*** *este proteina*), importante din punct de vedere al diagnosticul serologic si in atasarea la receptorii celulari; aceste structuri proteice prezinta o *mare variabilitate* ceea ce permite aparitia de ***subtipuri*** cu ***proprietati antigenice noi*** (aparitia unor mutante); asa se explica posibilitatea virionului de a se sustrage mereu de anticorpii neutralizanti anti HIV, precum si greutatile intampinate de cercetatori in obtinerea unui vaccin eficient.

HIV 2 se aseamana din punct de vedere antigenic mai mult cu *SIV* (virus *cu tropism simian*); glicoproteinele din anvelopa difera mult fata de cele ale *HIV1*, ceea ce are ca urmare faptul ca, aparitia cconcomitenta a *HIV1* si *HIV2* in aceeasi zona geografica pune probleme de diagnostic serologic; din aceasta cauza testele moderne au fost concepute astfel incat sa deceleze concomitent *Ac anti HIV1* si *anti HIV2*.

Modalitati de transmitere:

- *contact sexual,*
- *manopere de manechiura- pedichiura,*
- *manopere invazive: tatuaje, acupunctura, injectii, extractii dentare, operatii chirurgicale, endoscopii…*
- *transplacentar,*
- *transfuzii sanguine*.

Patogeneza

Monocitele *(care ajung in tesuturi sub forma de macrofage***)** si **LTh** *(limfocitele T helper/structuri tinta***)** prezinta receptori si vor fi primele celule atacate de catre virus**;** aceste celule au rol major in declansarea si modularea raspunsului imun celular si umoral; intregul raspuns imun va fi afectat, deoarece initial este viciata *functionalitatea* celulelor imunocompetente, dupa care are loc *liza* acestora (*scaderea numarului, in valoare absoluta).*

Imunitatea mediata umoral este complet deviata, deoarece are loc *expansiunea anarhica a LB (limfocitelor B)* cu producerea unei cantitati mari de *Ig nespecifice*, ceea ce are ca urmare o *scadere a imunitatii specifice*; ca urmare deseori apar *boli cu componenta autoimuna* si chiar *limfoame*.

Imunitatea mediata celular este si ea alterata, deoarece scade activitatea **LTc** *(limfocit T citotoxic)* (*care in conditii normale participa la: liza celulelor bacteriene, liza celulelor infectate viral, liza celulelor tumorale si HS de tip intarziat/tip IV*).

Ca urmare, apar cu frecventa mare:

- *infectii bacteriene,*
- *parazitare,*
- *fungice,*
- *tumori si*
- *limfoame*.

Afectarea macrofagelor din sistemul nervos *(celule gliale, celule endoteliului vascular)* si a **neuronilor**, prin eliberarea de **factori neurotoxici**, produc diferite tulburari neurologice, dementa, meningoencefalite sau pot sa ramana asimptomatice.

Din punct de vedere clinic, infectia parcurge mai multe etape pana cand individul ajunge in stadiul de boala clinic manifesta.

- **Infectia acuta**- este frecvent *asimptomatica,* iar cand apar simptome, acestea pot mima o *mononucleoza infectioasa* (*hepatosplenomegalie, adenopatie generalizata)* sau o infectie cu *Cytomegalovirus (encefalopatii, neuropatii, eruptii cutanate).*
- **Infectia cronica**- *este asimptomatica o lunga perioada si se poate caracteriza prin unul dintre urmatoarele semne si simptome:*
    - *limfadenopatie generalizata,*
    - *diaree apoasa (> 1 luna) ,*
    - *febra (>38°C),*
    - *scaderea in greutate (>20% in 3 luni),*
    - *infectii cu oportunisti fara risc vital (Candida)*

  - *leucoplakia paroasa a limbii* (*fig. 117*).
- **ARC (A**IDS **R**elated **C**omplex**)-** in care apar concomitent cel putin doua semne dintre cele descrise mai sus.
- **Boala SIDA/ AIDS-** *se caracterizeaza prin aparitia :*
  - Infectiilor cu oportunisti (*cu risc vital*):
    - cryptosporidioza,
    - toxoplasmoza,
    - strongyloidoza,
    - mycobacterioze;
  - Stari precanceroase: leucoplakia paroasa a limbii;



Fig. 117- Leucoplakia paroasa a limbii

  - Tumori solide (*sarcom Kaposhi, limfoame maligne*) (*fig. 118*);



Fig. 118– Localizari bucale ale sarcomului Kaposi

  - Leucemii,
  - **Encefalopatii,**
  - **Carii**, **abcese dentare**.

Diagnosticul de laborator

- **Hemoleucograma** - se caracterizeaza prin: **pancitopenie** (*leucopenie cu limfopenie, anemie, trombocitopenie*),
- **Scade raportul LTh/ LTc,**
- **IDR la tuberculina este negativ (anergie),**
- **B2 microglobulina este crescuta (semn al distructiei limfocitelor),**

- **Teste serologice specifice:**
  - **ELISA-** test sensibil, rapid, in care se utilizeaza lizant viral brut ceea ce ii confera o *specificitate scazuta* (*apar reactii fals pozitive mai ales la alcoolici, boli limfoproliferative m*aligne…); intotdeauna un *test ELISA pozitiv* trebuie *confirmat* printr-un test cu o *specificitate mare*: **Western- Blott**. Acest test utilizeaza Ag virale purificate si izolate in amprenta pe nitrat de celuloza (**gp120, gp 41, p24, p 25, p18**).
  - **Detectarea principalului Ag**: **p24**, care poate fi detectat la debutul infectiei, dupa care in perioada de „*fereastra imunologica*” nu mai poate fi detectat; in stadiul de boala, p24 **poate fi detectata** din nou; in perioada „*ferestrei imunologice*”, pot fi detectati doar **Ac anti-p24**, care au o evolutie inversa cu cea a p24.
  - **Detectarea genomului** viral (***ARN** viral sau **ADN**-ul rezultat in urma reverstranscrierii*) prin **PCR (*P*** *olymerase* ***C****hain* ***R****eaction - reactia de polimerizare in lant*). Aceasta tehnica are cea mai buna specificitate si sensibilitate, fiind o metoda standardizata.

BIOFILMUL

Biofilmul este o concentrare densa de microorganisme, sub forma de ***conglomerate mono - sau multispecii***, atasate *la diferite suprafate* (*rareori se pot desprinde si pot flota in mediul inconjurator*) si care vor fi imbracate in proteine si polizaharide (*cu dubla origine: bacteriana si de gazda*).

Conglomeratele poseda *canale de apa* prin care *nutrientii intra in biofilm* si prin care *produsii toxici sunt excretati*. *Placa* dentara (*fig. 119*) care este *calcificata* se defineste ca si *tartru* sau *calculus*.



Fig. 119- Placa dentara calcifiata

Cel care a identificat pentru prima data biofilmul, a fost *Leeuwenhock* in *secolul XVII,* prin *examinarea directa a raclatului de pe dinti*.

Pentru a avea o imagine asupra *complexitatii factorilor ce influenteaza formarea biofilmului*, tabelul urmator contine *componentele salivare* si *functiile lor*.

Componentele salivare si functiile lor

Familia salivara	*Functia*
Anhidraza carbonica Histatina	***Tampon***
Amilaza Mucina	***Digestie***
Cistatinele Histatinele Proteinele bogate in prolina (*PRP*) Stareinele	***Mineralizare***
Mucine Staterine	***Lubrificarea*** ***Vascoelasticitatea***
Amilaze Cistatine Mucina PRP	***Imbracarea tisulara***

Staterine	
Histatine	***Antifungic***
Cistatine Mucine	***Antiviral***
Amilaze Cistatine Histatine Mucine	***Antibacterian***
Lizozimul (neuraminidaza)	***Bactericid***
Peroxidaze	***Inhibarea enzimelor glicolitice (Streptococ, Lactobacillus)***
Lactoferina	***Efect bacteriostatic (prin scaderea concentratiei de fier liber)***
Complementul (*continut in exudatul din fundul de sac gingival*)	***La granita dintre apararea specifica si nespecifica***
Leucocitele (*migreaza in cavitatea bucala prin fundul de sac gingival*)	***Prima linie de aparare nespecifica (fagocitoza)***
IgAs (*sintetizate la nivelul glandelor salivare si nu "filtrate" din torentul circulator*)	***Singura subclasa de imunoglobuline implicata in apararea nespecifica; cea mai rezistenta la actiunea hidrolazelor bacteriene.***

Formarea placii bacteriene implica 4 etape bine identificate, astfel:

1. in cateva *secunde* de la aparitia unei ***noi suprafete in gura*** (*eruptie dentara, proteze, obturatii*) *proteinele salivare* de dimensiuni relativ mici, incarcate eletro-negativ (*inclusiv PRP, cistatinele, staterinele*) *domina* **pelicula intiala**;

2. in *12 ore*, ***mucinele*** (*care sunt glicoproteine cu greutate moleculara mai mare*) se leaga de ***film*** (*cu participarea receptorilor locali*); exista *anumiti receptori* (*criptitopi*) care asigura *atasarea bacteriilor* la *dinti* si la *celulele epiteliale orale*; la individul cu *o igiena deficitara creste concentratia proteazelor* din *fluidul gingival* – astfel activandu-se *criptitopii*, favorizand atasarea *bacteriilor periodontopatice*; s-a dovedit ca unele bacterii (*Fusobacterium nucleatum, A. viscosus si A. naeslundii*) secreta *neuraminidaze*, care apoi expun *receptori tip galactozil*, la care ulterior alte bacteriile pot sa adere; in aceasta etapa mai intervin 2 tipuri de *mucine salivare*:

   a. ***MG1*** (*care mentine protectia vascoelastica impotriva agentilor microbieni si chimici*) si functioneaza ca si *receptor selectiv* pentru legarea specifica a speciilor de *Haemophilus* si a altor microorganisme (*fig. 120*);

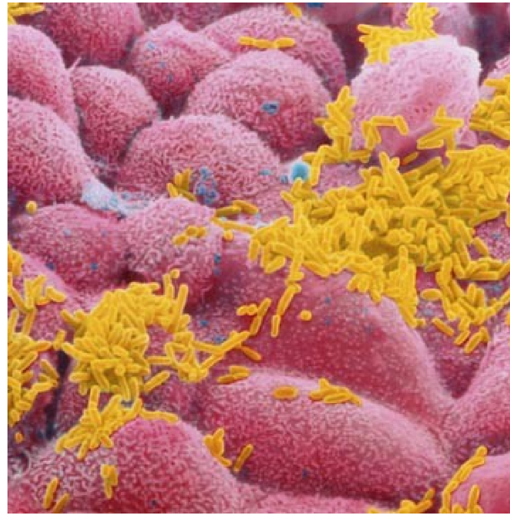


Fig.120 – Haemophilus influenzae (colorat in galben)

b. ***MG2*** – care functioneaza ca *receptor* pentru *Actinomyces*;

3. ***adezinele bacteriene*** si ***legarea ireversibila***: cand *microorganismele adera* utilizand *receptorii specifici* (*tip adezina*) prin *mecanism "cheie-lacat*" (*tip complementaritate*) legarea este *invariabil ireversibila*; au fost identificate mai multe *tipuri de adezine*:

    a. *Actinomyces spp*. poseda 2 tipuri de *fimbrii* distincte din punct de vedere *antigenic* si *functional*: *tipul 1* – care mediaza *aderarea la PRP* si la *staterinele* pe filmul gazdei (*de exemplu proteine la proteine*) si *tipul 2* – care leaga *lactoza* pe *alte bacterii* (*cum sunt streptococii*) in *reactie de co-agregare** si *co-adeziune*** – ce construiesc biofilmul;

    b. *Streptococul mutans* are o *proteina B* cu greutate moleculara mare, ce *se leaga de aglutininele salivare*;

    c. *Streptococul gordonii* (*fig. 121*) are o proteina ce se leaga atat de *MG-1* si *MG-2* cat si de *A. naeslundii*.



Fig.121 – S. gordonii (ME)

In incercarea de a intelege interactiunile cu structurile cavitatii orale, au fost identificate *tipurile de receptori*, de care se leaga *bacteriile*:

- *S. sanguinis* la *acidul sialic,*
- *S. mutans* la *fucoza,*
- *A. viscosus* la *galactoza,*
- *A. naeslundii* la *galactozamina,*
- *H. influenzae* si *S. mitis* la *proteine*.

4. ***co-agregarea si formarea biofilmului*** – in 1-2 zile, *bacilli Gram pozitivi* si *filamentele* se extind *spre exteriorul microcoloniilor* si *biofilmul creste in profunzime,* ca un strat condensat de *3-20 randuri de celule*, in imediata vecinatate a dintilor; *peste* acestea, se suprapune *un strat* format din *diverse microorganisme*.

**Co-agregarea* – ca si fenomen local, reprezinta interactiunea dintre 2 microorganisme bacteriene (*sub forma de perechi*) de exemplu *Actinomyces spp* si *C. albicans*.

***Co-adeziunea* – este interactiunea dintre microorganismele sesile (*aderente*) si un microorganism tip planctonic (*ce floteaza liber*); acest proces necesita legarea initiala a unui microorganism (*cum sunt actinomicetele, via fibrile hidrofobice*) apoi atasarea de acel microorganism a altor microorganisme (*cum sunt cocii Gram pozitivi ce utilizeaza pentru co-aderare, lipoproteinele*).

Microorganismele sunt ***legate intre ele*** si prin intermediul unei cantitati crescute de *polizaharide* (*interbacteriene*) cum este *dextranul* produs de *S. mutans* (*ceea ce amplifica adeziunea*).

Odata cu *desfasurarea reactiilor metabolice bacteriene*, *tensiunea oxigenului scade* si astfel se va inmulti *flora anaeroba*; pe suprafata stratului nou format, are loc *co-agregare* de *bacili Gram pozitivi* si *coci Gram pozitivi*.

Cresterea celulara in biofilm este *progresiva*: in fiecare zi - *din ziua 1 pana in ziua 7* - se multiplica de 2.5 ori.

Biofilmul inalt organizat este foarte rezistent la distrugerea acidica (*mai ales la pH de 3.5*) in timp ce *biofilmul dispersat* contine celule foarte sensibile la mediu acid.

Raspunsul gazdei la *formarea biofilmului* este ***reactia inflamatorie locala***. La *tesutul periodontal normal*, ***statusul imun innascut*** al gazdei se caracterizeaza prin expresarea unor cantitati scazute de ***E-selectine*** si a unui *gradient de **IL-8***; acesti *mediatori* se formeaza in *raspuns* la un *biofilm bacterian inalt organizat* (*placa dentara*) cu rol in *facilitarea tranzitului*

neutrofilelor prin tesut, *pana* la nivelul *santurilor gingivale*, unde au rol de ***protectie locala*** (*fagocitoza*).

Placa dentara se formeaza in mod natural, ca si *parte a mecanismului de protectie a organismului impotriva patogenilor exogeni*.

Important pentru practica medicala (*preventiva si curativa*) este cunoasterea faptului ca placa bacteriana nu este indepartata usor de un flux moderat de apa de gura (*spray de gura*).

Placa bacteriana este reprezentata de *diversele* **comunitati microbiene** ce exista *pe suprafata dintilor* (*dintii putandu-se identifica ca si structuri "infipte" intr-o matrice de polimeri de origine bacteriana si salivara)*.

In functie de ***locatia*** ei, *placa* poate fi definita ca si ***supra*** si ***subgingivala****:*

- ***placa supragingivala*** este aderenta la dinte si este reprezentata predominent de *flora Gram pozitiva*, cu *potential cariogenic*.
- ***placa subgingivala*** este formata predominant din *flora Gram negativa*, mai putin aderenta si in suspensie in lichidul gingival; *detritusurile* contin *microorganisme periodontopatice*.

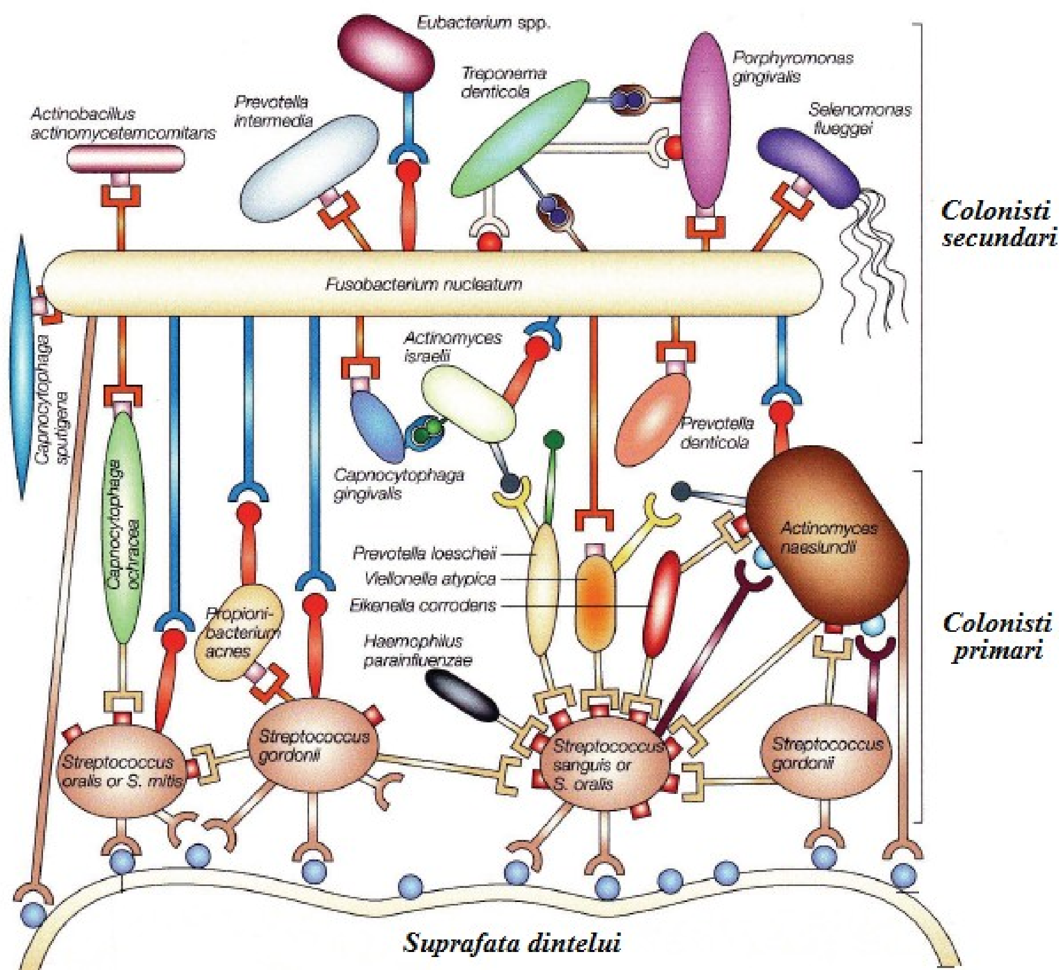
In functie de ***potentialul patogenic***, placa bacteriana poate avea efect: ***cariogenic*** sau ***periodontopatic***.

Biofilmul limbii

Morfologia fetei dorsale a limbii poate furniza, chiar in conditii fiziologice, *iregularitati* (cum sunt: *fisurile, santurile, zone depapilate*) ce pot servi ca si *arii de retentie* pentru bacteriile ce se dezvolta; prezenta fisurilor adanci, sunt puse in legatura cu cresterea dubla a numarului de bacterii si cu cresterea ***scorului odorizant*** al gurii si limbii.

Din ***biofilmul limbii***, se pot izola specii bacteriene ce provin *din toate nisele cavitatii bucale* (*inclusiv bacterii subgingivale*) (*fig. 122*).

Invelisul limbii este un *strat vizibil alb-maroniu*, ce adera *la fata dorsala a limbii*, format din *celule epiteliale descuamate, celule sanguine, nutrienti, bacterii* si *metaboliti*.



<u>*Fig. 122– Bacterii prezente in cavitatea orala*</u>

Au fost descrise *mai mult de 100 de specii bacteriene* diferite, care *se pot atasa de o singura celula epiteliala* situata *pe fata dorsala a limbii*, in timp ce doar aproximativ *25 specii bacteriene* sunt atasate la celule aflate in oricare alta zona a cavitatii bucale;

Compozitia invelisului limbii este in relatie cu diferiti factori cum sunt: *varsta, igiena orala, fluxul salivar* si *statusul periodontal*.

*In **formarea placii bacteriene un rol important** il are **semnalizarea celula-celula** si **semnalizarea bacterii-celula umana**.*

Celulele umane sunt capabile sa "*guste*" *nutrientii* si *sa reactioneze* la *semnalele bacteriilor* (cum sunt *lactobacilii, bacteroides*).

Comunicarea intre microorganisme a fost definita ca si "***qvorum sensing***"; aceasta comunicare *depinde de productia* uneia sau mai multor *molecule de semnalizare difuzibile*,

numite “***autoinductori***” sau “***feromoni***” care fac bacteria capabila sa monitorizeze ***densitatea propriei populatii celulare***.

La ***bacteriile Gram pozitive*** senzorii secreta *peptide*, care *cresc densitatea populatiei celulare*: de exemplu *pneumococul* produce o peptida stimulatoare care permite microorganismului *sa achizitioneze ADN exogen,* astfel in *organizarea biofilmului,* are loc si ***transfer genetic***.

Mecanismele de formare a placii dentare pot fi identificate, dupa cum urmeaza:

1. ***transportul bacteriilor catre dinti***, prin intermediul *salivei,*
2. ***adeziunea nespecifica reversibila***, incluzand *forte fizico-chimice*, cum sunt: *fortele de atractie* (*Van der Waals*) si *fortele de respingere electrostatica,*
3. ***interactiuni specifice moleculare*** *intre* ***adezinele colonistilor initiali*** si ***receptorii gazdei***, in ***pelicula dobandita***; de exemplu *S. oralis* poseda ***neuraminidaza*** pentru *clivarea acidului sialic terminal*, din lanturile de oligozaharide ale glicoproteinelor, expunand astfel penultimul zahar galactozil, la care *S. oralis* se leaga, prin expresarea *lectinei* (ce leaga *galactoza*),
4. atasarea de ***colonistii secundari*** – prin *co-adeziune* (*fig. 123*)*,*
5. ***sinteza de polimeri extracelulari*** si ***cresterea microorganismelor***.



Fig.123 – Compozitia placii dentare (imagine electronomicroscopica)

Bacteriile identificate** in **placa dentara, sunt prezentate in tabelul ce urmeaza

Gram pozitivi	***Gram negativi***
Coci	
Streptococi	*Neisserii*
Peptostreptococ	*Veillonela*
Gram pozitivi	***Gram negativi***
Bacili	
Actinomycete	*Capnocytophaga*
Bifidobacterium	*Eikenella*
Corynebacterium	*Fusobacterium*
Eubacterium	*Haemophillus*
Propionibacterium	*Leptotrichia*
Rothia	*Prevotella*
	Porfiromonas
	Selenomonas
	Treponema

*Exista mai multi **factorii** care influenteaza **cresterea placii**:*

- ***varsta*** (*marcata prin stergerea liniei gingivale odata cu inaintarea in varsta*),
- ***eruptia dentara deciduala,***
- ***expunerea la agentii microbieni*** (*in functie de utilizarea apei de gura si a antibioticelor din alimente*),
- ***sarcina***,
- ***schimbarile hormonale***,
- ***stresul***,
- ***igiena orala,***
- ***boala periodontala,***
- ***terapia antimicrobiana,***
- ***fumatul,***
- ***leziuni locale***.

Comunicarea intre comensalii cavitatii orale

Placa dentara este un ***consortiu inalt organizat de specii bacteriene*** ce ***coopereaza*** si ***mentin o relatie lunga cu gazda***.

Placa dentara este organizata ***ca un biofilm***, in care *diferitele colonii microbiene interactioneaza.*

Specificitatea inalta* a *comunitatilor biofilmului *asociata cu* ***starea de sanatate*** a unui individ, se poate dovedi prin *ordinea aparitiei bacteriilor*, dupa curatarea profesionala a dintilor.

Astfel, ***dupa igienizare*** dintii vor fi imbracati intr-***o pelicula salivara***; *pelicula* ofera *liganzi* si *receptori de atasare* pentru multe ***bacterii Gram pozitive*** (reprezentand *primii "colonisti"* ai dintilor si se asociaza cu starea de *sanatate periodontala*) dar *nu* si pentru *bacterii Gram negative*.

Bacteriile comensale ce exista *pe suprafata dintilor* dezvolta metode foarte specifice pentru a-si facilita ***atasarea unele de altele***.

Biofilmul dintilor si al *altor structuri orale*, demonstreaza ***nevoile nutritionale multiple ale comunitatilor bacteriene***, fiind capabile sa *interactioneze una in beneficiul alteia.*

Consecintele moleculare ce sunt asociate cu ***succesiunea specifica a speciilor bacteriene*** ce apar ***structurate in placa dentara***, ***nu*** sunt un ***hazard*** fiind capabile sa mentina pentru *un timp lung* ***relatia cu un peridontiu sanatos***.

Relatiile interspecii bacteriene implicate in placa dentara

Formarea biofilmului si ***starea de competenta*** pentru ***transformarea genetica*** depinde de "***qvorum sensing***" care este *conditionat de densitatea populatiei celulare* si de *aportul de metale*.

Exista ipoteza *ca nivelele crescute* ***de metale*** (*cum este Zn si Mg*) pot fi ***semnale pentru celule***, pentru ***a-si schimba tipul de crestere*** – din ***cresterea la suprafata***, la cresterea ***tip "plancton***" si ***diseminare***.

Bacteriile se ataseaza *selectiv* la *pelicula* de pe *suprafata smaltului*, in cursul *etapelor initiale de formare a biofilmului*, *determinand interactiunea dintre proteinele celulare de suprafata si constituentii salivari ai biofilmului* (*peliculei*) ce *imbraca dintii*, de exemplu:

- ***acidul sialic*** leaga *glicoconjugatii* din *mucinele salivare* (*care sunt constituentii peliculari majori si se leaga la trombocite*).
- ***amilaza*** *hidrolizeaza amidonul*, iar legarea celulelor bacteriene la enzima poate facilita *achizitia de nutrienti*;

este sigur ca *modularea in expresarea si structura proteinelor de suprafata* poate influenta direct suprafetele dintilor.

S. viridans

Prin reprezentatii: ***S. sanguinis*** si S. ***parasanguis*** ***(****fig. 124, 125****),*** reprezinta 50-80% dintre ***comensalii*** ce *initiaza colonizarea suprafetelor dintilor* sustinand practic fundamentul fizic al placii dentare.



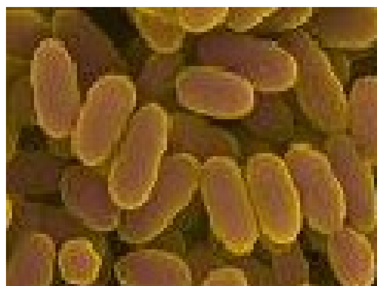


Fig. 124 - S. sanguinis   *Fig. 125– S. parasanguinis*

S. sanguinis (*anterior identificat ca si S. sanguis*)

Apartine ***primilor colonisti*** ai suprafetelor dintilor, jucand un *rol cheie in dezvoltarea placii bacteriene* si aici sunt implicate *proteinele celulare de suprafata* in formarea biofilmului.

Este interesant ca aceste bacterii sunt *unicele capabile sa colonizeze valvele cardiace* (*native sau prostetice*) dezvoltand *secundar* ***endocardita infectioasa***.

S-a dovedit ca odata ce *colonizeaza aceste structuri*, *mici agregate celulare de suprafata* incep sa se formeze si se organizeaza in *aglomerari puternic aderente de celule*, care in timp vor fi *acoperite de plachete si fibrina* (ce se *aseaza peste stratul bacterian*) formand ***o structura atasata***, ***tip biofilm vegetativ***.

Ca si alte *infectii cu punct de plecare biofilmul*, ***endocarditele*** sunt *grave*, frecvent *persistente*, chiar dupa tratamentul antibiotic repetat.

S. mutans

Este o alta specie de streptococ ce exista in cavitatea bucala, considerat *agentul etiologic principal in formarea cariilor* ***(****fig. 125****)***. Acest streptococ are capacitatea de a *fermenta un spectru larg de carbohidrati, cu efecte in lant:*

- *produsii finali* sunt reprezentati de *acizi*,
- *secundar demineralizarea smaltului* si
- *aparitia cariei*.


Fig. 125- S. mutans

Astfel, ***formarea biofilmului*** si ***capacitatea de a corecta conditiile nefavorabile*** (*de exemplu scaderea pH-ului*) sunt *factori cheie ce influenteaza cariogenicitatea acestui microorganism*.

Un alt *mecanism* al *cariopatogenitatii lui S. mutans*, este acela de a *achizitiona noi fragmente de ADN* (*molecule straine*) prin fenomenul de ***competenta genetica***.

Recent s-a stabilit o legatura intre formarea **biofilmului sucroza-dependenta** si **capacitatea** bacteriilor de a sintetiza **bacteriocine**, *productia* fiind controlata de "***qvorum sensing***".

Bacteriocinele sunt *peptide* cu *activitate antibacteriana*, ce induc *liza bacteriana* si *eliberarea ADN-ului* care poate fi *captat* si *recombinat* (*status de competenta genetica*) in cromozomii celulelor bacteriene (*ce apartin comunitatii biofilmului*) care vor deveni rezistente la antibiotice. Rezulta ***importanta ADN-ului extracelular*** in ***functia*** si ***persistenta biofilmului***.

S. mutans sintetizeaza *enzimatic exopolizaharide (*din *sucroza din dieta*) care vor facilita ***aderenta*** si ***formarea biofilmului*** si ***cresterea virulentei acestui microorganism***. O *varietate* de ***adezine de suprafata*** ale ***S. mutans*** au *rol in* ***formarea biofilmului***.

Actinobacillus actinomycetemcommitans (A.a.)

Este un ***patogen periodontal Gram negativ***, asociat ***periodontitei locale agresive*** si ***afectiunilor sistemice severe*** (***endocardita infectioasa, abcese cerebrale***).

Este un *microorganism foarte adaptat* pentru *aderarea locala*, *participand la formarea biofilmului* ***(****fig. 127****)***; cu ajutorul *microscopului electronic* s-a demonstrat ca aceste bacterii formeaza ***fimbrii groase***, compuse din ***manunchi de pili*** – care *moduleaza* ***interactiunile celule-celule***, ***celule-suprafete*** implicit ***dezvoltarea biofilmului***.

Dupa aderarea locala invadeaza:

- atat *celulele epiteliale* cat si
- *cele endoteliale*;

In cursul *invadarii*, **A.a.** *migreaza prin celulele epiteliale* si vin ***in contact cu tesutul de conexiune*** si cu diferitele tipuri de ***colagen***.



Fig. 127– Cultura de Actinobacillus actinomycetemcommitans

Matricea extra-celulara polizaharidica este ***esentiala*** in ***dezvoltarea*** si ***mentinerea structurii biofilmului***. Studii genetice si biochimice au aratat ca **PGA** (*un peptid polimerizat*) este **proteina de baza** din **matricea *biofilmului A.a*.**

Porfiromonas gingivalis

Este o **bacterie anaeroba Gram negativa** *(fig. 128)*, ce exista in *placa subgingivala*, *asociat* cu ***formele severe*** si ***cronice de boala periodontala***– inducand ***distructia tesutului suportiv al dintilor*** si intr-un final ***pierderea dintilor***; este frecvent asociat cu *procesele generale* de ***ateroscleroza***.

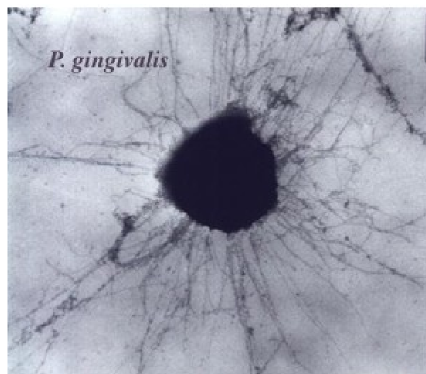


Fig.128 – Porphiromonas gingivalis

Anumiti ***factori supraadaugati*** sunt asociati cu ***virulenta*** acestui *anaerob oral*, cum sunt:

- ***proteazele,***
- ***endotoxinele***,
- ***colagenazele***,
- ***structurile de suprafata – fimbrii*** si ***capsula***.

P. gingivalis are capacitatea *de a se atasa* si *invada celulele epiteliale umane*, *tesutul de conexiune* si *celulele endoteliale*, iar ***invazia*** este sustinuta de ***fimbrii*** si ***adezine de suprafata (****fig. 128****)***.

S-a dovedit recent ca ***pilii*** lui ***P. gingivalis*** se leaga de ***proteinele salivare***, parte a ***peliculei dobandite***, pe *suprafata dintilor* – cum sunt ***PRP /Proline Rich Proteins/*** si ***staterinele***.

Este evident ca *multiplicarea* ***P. gingivalis*** in ***placa subgingivala*** ocupa o pozitie centrala in *dezvoltarea patologiei locale*.

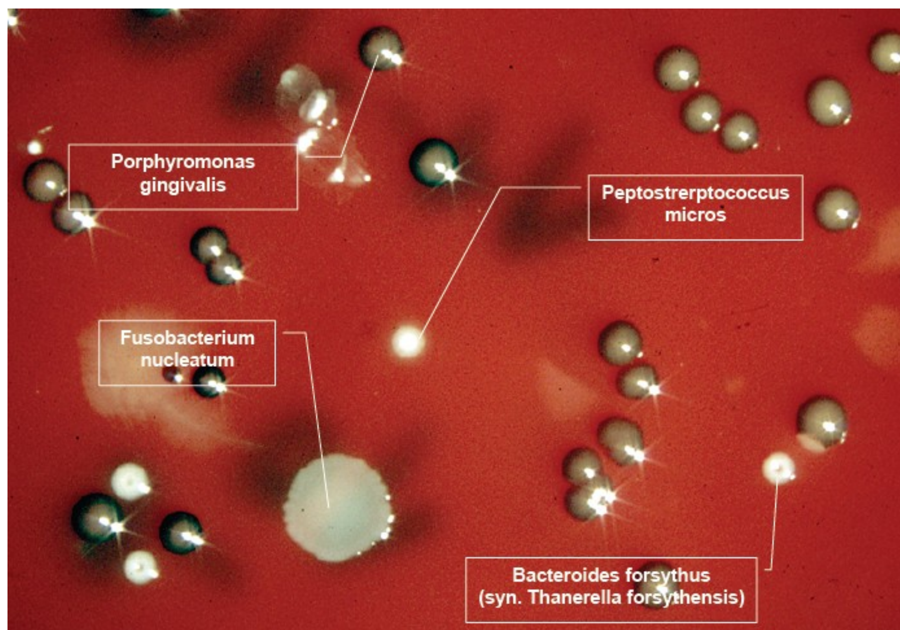


Fig. 128 - Interactiunile intra si interspecii

La **interactiunea celulelor** perticipa:

- **adezinele** (*cu multiple specificitati*),
- **fimbriile**,
- **proteinele de suprafata**,
- **lipoproteinele** ce pot exista si in mediul extracelular.

Densitatea celulara mare si **diversitatea microbiana**, fac din **biofilmul oral**, un **sistem biologic unic**, extrem de complex in care atat **cooperarea** cat si **competitia** – sunt implicate **in maturarea** si **functionarea acestei comunitati**.

Apropierea fizica dintre **celulele bacteriene** ale acestei **comunitati**, faciliteaza **comunicarea celula-celula**.

In esenta, celulele se fac simtite prin **secretia** si **semnalizarea acumularii de produsi metabolic finali** si a **moleculelor de semnalizare**.

Semnalizarea este dependenta de **densitatea populatiilor celulare** ("***qvorum sensing***") care practic este **cheia comunicarii**, implicate in **reglarea genica** – in decursul **dezvoltatii biofilmului**;

Una dintre **moleculele de semnalizare** ale populatiilor celulare este **auto-inducer A** (***AI-2***) cu *rol deosebit in dezvoltarea comunitatilor multispecii*.

Bacteriile care exista in anumite zone ale cavitatii orale, tind sa interactioneze cu alte bacteria, care se pot izola din aceleasi situsuri anatomice (*de exemplu cele de la nivel lingual coagrega cel mai bine cu alte bacterii, care au tropism pentru aceasta zona*) sugerandu-se **o organizare spatiala tintita in formarea biofilmului oral**;

Pe langa **considerente de timp** ce influenteaza **interactiunea celula-celula,** in cursul **maturarii placii**, **contactul** este influentat si **factorii din mediul inconjurator**.

Faptul ca **interrelatia** este **conditionata** de adaugarea de **zaharuri** (***lactoza, galactoza***) indica faptul ca exista o **specificitate**, dependenta de **receptorul ligandului**.

Cum s-a aratat anterior, **S. gondonii** este **colonistul initial** al **suprafetelor imbracate in saliva**, acesta putand **coagrega cu Fusobacterium nucleatum** (***colonist intermediar***), dar **nu cu A.a**. care este un ***colonist tardiv***.

Astfel, **F. nucleatum** ***(****fig. 129****),*** are un **rol** deosebit **in coagregare**, putand **interactiona** atat cu **S. gordonii** cat si **cu A.a.**, reprezentand "**puntea**" dintre **cele 2 genuri diferite**.

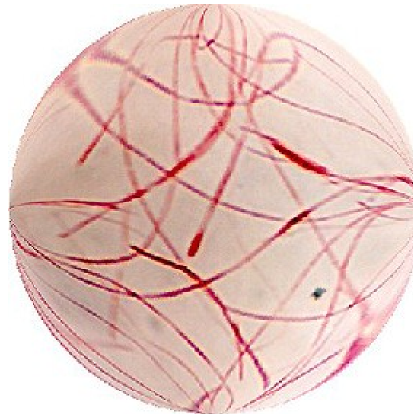


Fig. 129– Fusobacterium nucleatum

Tot **F. nucleatum** mai are **abilitatea** de a **coagrega** cu alti **colonisti tardivi**, cum este **Treponema forsythia**.

De asemenea s-a aratat ca **in cadrul coagregarii** exista **interactiuni specifice directionate** asupra anumitor **specii**:

- *de exemplu* **aderenta** lui **P. gingivalis la S. gordonii**, implica *o regiune stricta* a unui *polipeptid de suprafata al streptococului*;

- pe de alta parte, **P. gingivalis nu adera de S. mutans** – ceea ce arata ca *diferente aparent nesemnificative in secventa polipeptidelor de suprafata* **nu** permit aceasta interactiune, aparand ipoteza ca **interrelatia celula-celula**, este **foarte specifica**.

Studii clinice arata ca **asocierea dintre P. gingivalis** si **Treponema denticola** ***(****fig. 130****),*** – *amandoua bacterii anaerobe* – induc aparitia de **forme severe de boala peiodontala**; dar **T. denticola** poate sa participe **la placa dentara**, **doar daca se ataseaza la P. gingivalis**, care a fost atasata anterior– dovedindu-se **relatia de cooperare** si **efectul sinergic**.



Fig. 130– Treponema denticola

BOALA PERIODONTALA

Peridontiul este ***tesutul de sustinere al dintilor***, compus din:

- ***cementul radacinii***,
- ***ligamentul periodontal***,
- ***linia osoasa ce margineste sacul dintelui*** (***osul alveolar***) si
- ***partea de gingie dinspre dinte*** (***jonctiunea dento-gingivala***).

Boala periodontala este o infectie cauzata de ***placa bacteriana indigena***; este cauzata *de* ***germeni oportunisti*** (*o infectie "oportunista" reflecta "esecul" mecanismelor de aparare specifica, de exemplu a imunitatii umorale*).

Local exista un *raspuns imun* "*dependent de timp*" ce mimeaza *istoria naturala a infectiei*. Acest raspuns include *remodelarea tesuturilor de conexiune subjacente*, inclusiv *la nivel osos.*

Din cauza *complexitatii factorilor* implicati in aparitia *bolii periodontale*, exista cateva *ipoteze* legate de *interconditionarile* din cursul *formarii placii specifice*:

- intre *fluidul crevicular* si *boala periodontala*,
- intre *afectarea polimorfonuclearelor neutrofile* si *boala periodontala*,
- intre *implicarea neutropeniei* (*prin dovezi experimentale*) *functionalitatea limfocitelor* si *monocitelor* si *raspunsul imun secundar*.

Bacterii benefice ale peridontiului

Echilibrul gazda-bacterie este *dependent* de *markerii genetici specifici* fiecarui individ in asociere cu *factorii de mediu*.

Ipoteza existentei bacteriilor cu influenta benefica, este sustinuta de dovada ca ***un tesut periodontal sanatos clinic*** si ***functional***, are un ***continut inalt de mediatori ai inflamatiei***, ce joaca un *rol cheie* atat in *apararea acestui tesut* cat si *a starii de sanatate a intregului organism*.

Dovezi circumstantiale indica faptul ca acesti mediatori sunt prezenti, in raspuns la un ***consortiu microbian specific*** *(placa bacteriana)* ce exista *la suprafata dintilor*.

Cum *tratamentul eficient* al *bolii periodontale* este *indepartarea* atat a *placii bacteriene supragingivale* cat si *subgingivale,* rezulta ca *bacteriile* sunt parte a unui sistem pe care-l identificam pana la un moment dat, ca si *tesut periodontal sanatos*.

S-a dovedit un fapt relativ surprinzator, ca bacteriile pot participa chiar si la procesele de dezvoltare a tesutului gazdei.

Oricum aceste observatii nu reprezenta cu acuratete relatia bacterie-regn animal.

La ***indivizii sanatosi*** exista ***asocieri benefice*** de bacterii *si in alte situsuri anatomice*, de exemplu:

- ***intestinul uman*** este "*ocupat*" de aproximativ *400 specii bacteriene*, cu *impact direct* inclusiv asupra *morfologiei intestinale*; cum *bacteriile* sunt responsabile de *degradarea glicoproteinelor* si *mucusului*, *absenta lor* duce la *dilatarea cecului*, cu *efect asupra motilitatii tractului intestinal*.
- **la *nivel vaginal*** exista un *habitat comfortabil* pentru o serie de bacterii, de exemplu *lactobacillus*; intre *gazda* si *lactobacili*, exista o relatie de *pur comensalism*: *celulele vaginale* furnizeaza *glucoza* pentru aceste bacterii, la randul lor *lactobacilii* produc *acid*, prevenind cresterea multor altor specii bacteriene, ce ar avea efecte negative la acest nivel.

Relatiile de comensalism din organismul uman, au fost subestimate, deoarece:

- s-a crezut ca bacteriile comensale sunt "*tolerate*" de gazda, fara a fi agresive sau fara a interfera in vreun fel cu organismul gazda,
- *unele relatii* au fost privite ca *bilateral benefice* (cum se intampla *la nivel intestinal si tegumentar - prin ocuparea tuturor receptorilor celulari disponibili*) dar oricum in toate aceste relatii, bacteriile au fost considerate ca si cum nu ar fi fost participante active in procesele de nutritie si aparare ale gazdei,
- este dificila studierii mecanismelor de adaptare si supravietuire bacteriana.

Tocmai pentru a estima corect relatia de comensalism, se utilizeaza *tehnici genetice,* pentru studierea *efectelor moleculare ale bacteriilor comensale* in *dezvoltarea* si *maturarea functionala* a *tesutului gazda*.

Sistemul imun poate promova *interactiuni benefice* intre *bacterii* si *tesuturile organismului gazda*.

Se stie ca *sistemul imun* este capabil sa recunoasca structurile straine, dar in situatii bine definite, trebuie sa acceptam ca acesta nu recunoaste bacteriile ca structuri straine, din contra, *tesutul gazda* poate promova *asocierea cu aceste bacterii*, care au *influente benefice asupra gazdei*.

Sistemul imun innascut este *caracter de specificitate*, avand abilitatea de a *recunoaste* anumite *tipuri bacteriene* ca *neagresive* fata de care si *nu*-si va activa *mecanismele de clearance*.

S-a dovedit ca unele *componente bacteriene* sunt capabile sa induca *un raspuns innascut – acizii lipoteicoici, LPS* (*endotoxina* din *peretele celular al bacteriilor Gram negative*)*, fimbriile* si *peptidoglicanul*. Initial compusii microbieni ca si *LPS* se leaga de *proteinele de recunoastere* (**LBP*/LPS-binding protein/ si ***CD14*) dar acest lucru nu este de ajuns pentru a produce activarea celulelor gazda.

**LBP* este *o proteina de faza acuta* sintetizata la nivel hepatic si concentratia ei poate creste pana la 8 ori in cursul inflamatiei.

Similar ***CD14 salivar* (*sCD14*) este semnificativ mai crescut *in lichidul crevicular*, comparativ cu nivelul seric, indicand faptul ca acest *receptor de recunoastere* este format *loca*l, *in raspuns la placa bacteriana*; se considera ca nivelul crescut de *sCD14* poate avea *un rol protectiv* prin *amplificarea fagocitozei bacteriilor patogene* din placa.

In anumite conditii printr-un ***lant de mesaje***, ***semnalul*** va fi transmis ***intracelular*** /via *receptorul pentru IL-1*/ cu:

- *sinteza* ulterioara de ***citokine*** (*pentru o eventuala indepartare a bacteriilor agresoare*) sau
- ***expresarea moleculelor de adeziune***,

astfel se creeaza un "***dialog***" ce *comanda* care *tip de raspuns al gazdei* va fi *activat*.

Cantitatea *diferitelor* ***proteine ale gazdei***, disponibile *sa interactioneze* ***cu liganzii microbieni***, influenteaza de asemenea ***tipul raspunsului innascut al gazdei*** astfel atat *LBP* si *CD14* – sunt *influentate de infectia bacteriana*.

Un alt ***mecanism*** *al gazdei* pentru ***recunoasterea*** si ***diferentierea*** intre populatiile bacteriene, este influentat de ***modul de legare*** (*gradul de aderenta*) al *diferitelor* ***componente microbiene*** *la* ***receptorii de recunoastere***.

Din aspectele de mai sus, rezulta ca ***raspunsul imun innascut*** indus de *legarea receptorului de recunoastere* la *componentele bacteriene*, induce ***un proces dinamic inalt coordonat***.

Astfel se explica de ce ***schimbarea compozitiei microbiene* a *placii dentare***, de la ***preponderent Gram pozitivi*** (***stare de sanatate***) la ***preponderent Gram negativi anaerobi*** (***stare de boala***) are loc in cursul dezvoltarii ***gingivitelor*** si ***periodontitelor***, care *vor altera semnificativ* ***expresia mediatorilor inflamatiei*** *la nivel* ***periodontal***.

Statusul de aparare innascuta a tesutului periodontal sanatos

Examinarea histologica a *tesutului periodontal* a aratat ca *absenta jonctiunilor stranse intre celulele* ***e****piteliului* ***j****onctional* (***EJ***) ofera *permeabilitatea tisulara* a *produsilor bacterieni*.

Studii multiple au aratat existenta unui ***infiltrat inflamator discret*** in ***tesutul sanatos clinic***, care *se amplifica in conditii inflamatorii* (*gingivita*).

Infiltratul inflamator celular include: ***neutrofilele, limfocitele, monocitele***, toate fiind capabile sa *raspunda rapid la alterarile barierei epiteliale* sau *la schimbarile florei locale.*

Acest *tip de raspuns* are o importanta deosebita, atat timp cat ***complexul dentar*** este ***unic***, in sensul ca ***tesutul calcifiat*** *penetreaza epiteliul in*tr-un *mediu nesteril particular.*

Astfel, ***mecanismele protective*** prezente ***la jonctiunea epiteliala*** pot fi ***unice***, cu scopul *limitarii patogenilor* ce au *intentia de a penetra tesuturile mai profunde*; aceste *mecanisme* includ *efectele protective ale gazdei*, in *raspuns* la *activitatile florei normale*.

Raspunsul imun innascut in ***tesutul sanatos***, este deosebit de ***bine orchestrat***. *Studii moleculare* ale *compozitiei* ***santurilor periodontale sanatoase*** arata o concentrare a ***citokinelor proinflamatorii**: **IL-8*** si ***ICAM-1*** (*molecula de adeziune*) pornind *de la marginea placii*, pana *la tesutul de conexiune profund*. Aceste molecule *atrag neutrofilele* la nivelul *epiteliului de jonctiune* si *pregatesc tesuturile* pentru *apararea* impotriva unei *potentiale injurii patogenice*.

Celulele endoteliale sunt activate de asemenea de ***E-selectine*** care servesc la *recrutarea continua a celulelor inflamatoare din circulatie*, in *tesutul periodontal*.

Patogenii periodontali *au capacitatea de a disrupe dialogul benefic gazda-bacterii.* Anumiti *patogeni periodontali* (*cum este Porfiromonas gingivalis*) sunt adaptate sa traiasca *in pungile periodontale*, iar ***LPS***-ul (din *membrana externa*) este capabil sa ***inhibe E-selectinele*** si ***IL-8***, putand *interfera* cu ***raspunsul inflamator superficial***.

Acest lucru ajuta *bacteria sa nu fie eliminata*, prin *promovarea* si *mentinerea* unei ***inflamatii profunde*** ce ofera *microorganismelor nutrientii necesari* (*obtinuti pe baza cresterii volumului fluidului crevicular si a produsilor sanguini din leziunile epiteliale ulcerate*); se dovedeste astfel capacitatea lui ***Porfiromonas gingivalis*** de a fi un ***real periopatogen*** ce *altereaza* ***raspunsul imun benefic innascut*** si ***adaptativ***.

Ca un sumar al evenimentelor expuse, se poate spune ca ***interactiunea in pungile periodontale***, dintre *bacterii* si *gazda* duc la ***un status de homeostazie relativa,*** **cu** ***agravari ocazionale*** ale ***inflamatiei superficiale*** si ***pierderea contactului dintre dinte si peridontiu*** **!!!**.

Factorii ce influenteaza patologia peridontiului

Nivelul actual de intelegere a aparitiei ***bolii periodontale*** (***BP***) se datoreaza *studierii* ***factorilor genetici*** si *ai* ***factorilor de mediu***.

Gingivitele cronice se observa obisnuit la *indivizii cu igiena bucala deficitara (care experimental nu se spala pe dinti*, *10* pana la *20 de zile)*.

Hiperplazia gingivala este o ***reactie exagerata*** la *formarea placii dentare*.

Periodontita – in contrast fata de gingivite – este observata doar la o parte a populatiei (*10-15*%) este *variabila* si *nu afecteaza toti dintii* (*pe cei pe care ii afecteaza, sunt localizati in situsuri specifice*).

Studii epidemiologice recente ale ***BP*** arata ca doar cativa indivizi din fiecare grup de varsta sufera de *distructie periodontala avansata* si sunt afectate doar *situsuri specifice fiecaruia*.

Unde studiile nu au luat in considerare modificarile in gradul de aderenta, s-a constatat un lucru interesant, ca *doar cateva situsuri* (*relativ putine ca nu*mar) sufera o *distructie periodontala extinsa*.

BP este considerata a avea ***factori multiplii de risc***. Termenul de "***factori de risc***" se refera la un ***aspect personal legat de stilul de viata***, ***expunerea la factorii de mediu***, ***caracterele mostenite***.

Factorii de risc sunt *parte a lantului cauzal* pentru *o anume afectiune*; prezenta unuia dintre factorii de risc implica o *crestere directa a probabilitatii de aparitie* a unei boli.

Factorii de mediu pot influenta ***tesutul periodontal sanatos*** sau ***lezionat*** si pot "*amprenta*" inflamatia gingivala preexistenta, ducand la un raspuns al gingiilor sau peridontiului, mai agresiv sau mai slab in intensitate.

Diferentele genetice innascute **se pot observa dupa**:

1. ***tipul de acumulare a placii dentare***,
2. posibilitatea ***aparitiei secundare a inflamatiei***, care se poate manifesta ca:
    - ***gingivita***, care la anumiti subiecti poate continua sa evolueze spre
    - ***periodontita***.

Anumite ***conditii generale*** duc la ***cresterea prevalentei***, ***incidentei*** si ***severitatii gingivitelor*** si ***BP.*** Dintre acestea:

- diabetul zaharat in cadrul caruia ***BP*** este considerata ca una dintre *complicatii,*

- tratamentul cu ***Fenitoin*** (*anticonvulsivant*) care afecteaza primordial *dintii anteriori,*

- ***infectia HIV*** care este asociata cu *manifestari orale*: ***gingivita lineara eritematoasa***, ***gingivita ulcero-necrotica***, ***periodontita severa localizata***, ***stomatita severa necrotica destructiva*** – ce lezioneaza ***gingia*** si ***osul***; poate ca aceste leziuni nu sunt specifice – dar sunt *exacerbate la indivizii imuno-deprimati*,

- ***stresul emotional*** (*monitorizat prin cresterea corticosteroizilor circulatori/masurati in urina*) – creste incidenta ***gingivitei ulcero-necrotice,***

- ***tulburarile hematologice*** – in functie de *natura afectiunii*:
    - o de exemplu in *sindroamele histiocitare* (*cu necroze tisulare, pierderi osoase semnificative*) in care diagnosticul se pune prin *biopsia tesutului de granulatie,*
    - o in *deficientele cantitative ale PMN* care sunt asociate in general cu *manifestari periodontale*, dezvoltand chiar *forme maligne*,
    - o in cazul *neutropeniei benigne familiale*, *cronica ciclica* – dezvolta *leziuni frecvent severe*, cu *pungi adanci periodontale* si *extinse*, *pierdere generalizata osoasa* – in *perioada dentitiei definitive*,
    - o *formele acute de leucemie*, dezvolta frecvent *leziuni periodontale*: *hipertrofie gingivala* din cauza *infiltrarii cu celule leucemice* (*in leucemia acuta monocitara, leucemiile limfatice cronice*),
    - o *trombocitopenia* asociata *hemoragiilor gingivale*.

- ***afectiuni genetice***:
    - o ***sindromul Down (****fig. 131****)***– insotit de o ***periodontita precoce generalizata*** – la *prima dentitie* si *continua la varsta adulta*; *prevalenta* si *severitatea* este *crescuta*, iar *dintii afectati* sunt *incisivii* si *zona molarilor*.

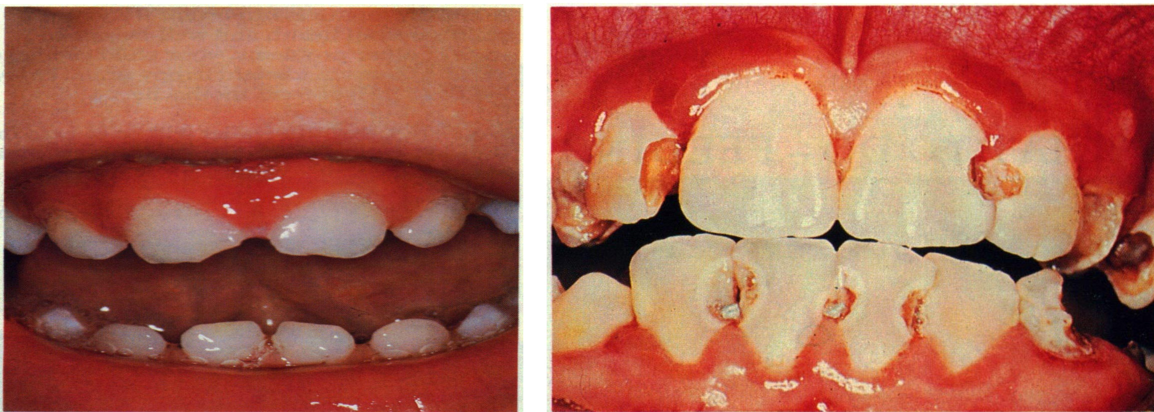


Fig. 131– Gingivita (stanga) si carii dentare (dreapta) la pacienti cu sindrom Down

- o ***sindromul de deficienta de adeziune leucocitara*** (*boala autosomal recesiva, cu deficit de receptori de adeziune*); exista ***afectari inflamatorii severe ale peridontiului***,

- ***granulomatoza cronica*** – fagocitele (*PMN si monocitele*) nu pot fagocita din cauza *incapacitatii* de *a utiliza calea oxidativa*,
- ***sindromul Papillon-Lefevre (****fig. 132****)*** – cand exista *leziuni hiperkeratozice tegumentare, cheratoza palmo-plantara* si ***periodondita generalizata severa***, cu *debut la pubertate*.



Fig. 132– Eruptia dentara la un pacient cu sindromul Papillon-Lefevre

- ***hipofosfatazia*** – cand exista *o scadere a fosfatazei alcaline seri*ce, cu ***pierdere severa osoasa*** si ***a dintilor temporari****,*
- ***deficientele calitative ale PMN*** – *asociate functiei PMN*, acompaniate frecvent cu ***distructii ale peridontiului anumitor dinti***, de exemplu in *sindromul Chediak-Higashi* (*boala genetica rara*) exista o ***gingivita severa, generalizata***, cu *pierdere extinsa osoasa* si *pierderea prematura a dintilor,*
- ***sindromul Ehler-Danlos*** – cu *deficiente de sinteza de colagen* si susceptibilitate crescuta la ***periodontopatii***.

- ***varsta*** – prevalenta bolii periodontale *creste odata cu varsta:*
  - unele studii au aratat ca ***rata distructiei periodontale*** este relativ constanta de-a lungul vietii adulte, pana la 70 de ani, cu *amprentarea* procesului de catre *schimbarile hormonale* si a *osteoporozei*.
  - *semnele clinice* sunt *exagerate* si *gingia* este *mai edematiata* si *inflamata* la indivizii ***"furtuni hormonale",*** cum sunt *copiii in perioada pubertatii* si *femeile gravide*,
  - ***fumatul*** tinde *sa reduca inflamatia gingivala*, probabil datorita *efectului nicotinei* – care induce ***vasoconstrictie locala***, *reducandu-se* astfel ***edemul tisular*** si ***fluxul fluidului gingival crevicular***.

Forma destructiva a BP este o ***consecinta a interactiunii factorilor gazdei (microorganismele ce colonizeaza cavitatea bucala)*** cu factorii ***genetici***, ***de mediu***, ***sex***, ***fumat***, ***socio-economic*** si ***anumite afectiuni sistemice***.

Studiile clinice au aratat ca *microorganismele colonizeza rapid suprafata dintilor*, cand un individ nu se mai spala pe dinti (*o perioada relativ limitata: 10-20 de zile*) dupa care ***semne clinice*** si ***microscopice*** ale **gingivitei** devin evidente. Modificarile *inflamatorii secundare* pot fi rezolvate cu *o igiena orala corecta*.

Placa dentara este ***initiatoarea bolii periodontale***, dar *daca afecteaza un anumit subiect*, *forma bolii* si *progresiunea ei*, depind de ***mecanismele de aparare ale gazdei***.

Tipul placii (*fig. 133****)*** (*respectiv tipul microorganismului ce exista la acest nivel*) cat si ***cantitatea***, pot influenta ***crucial*** *interventia factorilor de mediu*.



Fig. 133– Placa dentara

Gingivita (*fig. 134****)*** este socotita ca o *conditie* ***premergatoare*** *dezvoltarii* ***periodontitei***, astfel *preventia periodontitei* este *o masura primara pentru* ***BP***.



Fig. 134– Gingivita

Microorganismele care *formeaza placa dentara* si *cauzeaza gingivite* – o fac prin *eliberarea de produsi bacterieni*, ce induc ***secundar inflamatie tisulara***.

Studiile clinice au aratat importanta ***indepartarii placii bacteriene supra*** si ***subgingivala***, in ***tratarea gingivitelor*** si ***periodontitelor***.

Este evident ca ***patogeneza BP*** este foarte *complexa* si *multifactoriala*. *Specificitatea de localizare* si predilectia pentru ***BP*** si ***gingivita***, este probabil *in relatie cu retentia placilor bacteriene in arii specifice*, cum sunt *lucrarile restaurative*, *margini deficitare ale coroanelor*.

Dintre ***microorganismele*** implicate ***in patologia peridontiului*** si considerate ca ***factori de risc*** se pot mentiona:

- ***Prevotella intermedia (****fig. 136****)*** (*alaturi de hemoragiile gingivale si calculus*) a fost corelata cu *pierderea aderentei dintre dinte si peretele alveolar*;



Fig.136 – Prevotella intermedia (ME)

- ***Porfiromonas gingivalis (****fig. 137****)*** si ***Tannerella forsythia*** – sunt asociate cu *risc crescut de pierdere a aderarii* (*identificarea lor este utilizata ca o masura a intensitatii BP, in functie de varsta, placa*, *fumat*, *diabet)*.



Fig.137 – Porphiromonas gingivalis

Factorii sistemici influenteaza toate *formele de* ***BP***, primordial prin *efectele* ce le induc *asupra sistemului imun* si *apararii anti-inflamatorii*: unul dintre exemple, este *reducerea numarului* si *functiei PMN* (*polimorfonuclearelor neutrofile*) cu *amplificarea ulterioara a distructiei periodontale*.

PULPA DENTARA SI PATOLOGIA INFECTIOASA

Forma matura a ***papilei dentare*** este ***pulpa dentara***, *inconjurata* de un tesut mineralizat, ***dentina***, care are ***rol de protectie (****fig. 138)*; fiind ***un sistem de protectie inextensibil***, *dentina* imprima pulpei dentare ***o tensiune intratisulara crescuta***, trasatura ce amprenteaza ***patologia pulpara***.

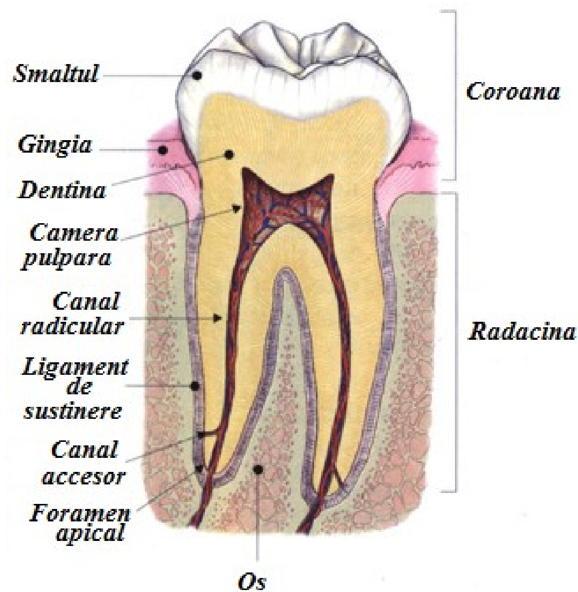


Fig. 138– Sectiune prin dinte

Din cauza *functionalitatii* si *patologiei comune*, acest sistem trebuie considerat ca un ***complex pulpodentinar***.

Compartimentul celular

Celulele cu rol defensiv la nivel pulpar sunt reprezentate de ***macrofage, celule dendrititice, polimorfonuclearele neutrofile, limfocite, plasmocitele*** **si** ***mastocitele***.

Macrofagele au abilitatea de a fi *mobile* in prezenta *stimulilor de tip inflamator*; sunt reprezentate de ***histiocit*** (*macrofagul fix, autohton*) si de ***celulele monocitare circulante*** ce s-au fixat la acest nivel.

Functiile macrofagelor, au la baza participarea la:

- *fagocitoza* si *pinocitoza* (*procesarea si prezentarea antigenului, limfocitelor Th*),
- procesul de *indepartare a detritusurilor tisulare* si *celulare*,
- *interactiunea* cu alte celule ce participa *la inflamatie*,
- *sinteza* unei varietati mari de *citokine proinflamatorii* (*de exemplu IL-1)*.

Celulele dendritice participa alaturi de *macrofage in* ***procesul de supraveghere imuna a pulpei dentare*** cu *o slaba activitate de tip fagocitar*.

Polimorfonuclearele neutrofile isi fac prezenta doar *in conditii de* ***inflamatie locala***.

Limfocitele sunt prezente cel mai frecvent *in* ***procesele inflamatorii cronice***:

- ***limfocitele*** *B* participa *la raspunsul imun de tip umoral* prin *sinteza de anticorpi specifici* de catre *plasmocite* (*limfocite B activate*).
- dintre ***limfocitele T***, la nivel pulpar predomina *limfocitele Ts* (*supresoare*).

Mastocitele (*celulele bazofile fixate tisular*) se intalnesc doar in situatia unui ***proces inflamator cronic***.

Compartimentul extracelular al pulpei dentare

Este alcatuit din ***substanta fundamentala, fibre de colagen*** si ***lichid interstitial***.

Substanta fundamentala reprezinta *un sistem coloidal* exercitand *un potent efect de* ***aparare*** cu ***limitarea difuziunii microorganismelor***.

Dintre *proteoglicanii* ce constituie *substanta fundamentala*, cei mai importanti sunt ***acidul hialunonic*** si ***condroitin – sulfatul***.

Orice ***agresiune locala*** duce la ***alterarea substantei fundamentale***, prin ***modificari metabolice, inhibarea functiilor celulare*** si ***demineralizari neregulate***, cu efecte evidente de ***limitare a raspunsului*** in caz de ***agresiune inflamatorie***.

Dintre ***functiile substantei fundamentale*** se pot mentiona:

- implicarea in *constituirea unei* ***bariere locale*** impotriva *difuziunii microorganismelor* si *a toxinelor microbiene*, in conditiile in care *agresorii nu poseda sistem enzimatic de depolimerizare a acidului hialuronic* sau *a condroitin-sufatului* (*de exemplu streptococul beta-hemolitic care sintetizeaza hialuronidaza, favorizeaza difuziunea microorganismelor*),
- asigura ***comunicarea*** dintre *celulele implicate in raspunsul inflamator*,
- contine ***componente plasmatice*** (*inclusiv anticorpi implicati in raspunsul imun umoral local*),

- asigurarea ***homeostaziei organului pulpar*** (*echilibrul dinamic intre depolimerizarea si repolimerizarea substantei fundamentale*); *gradul de polimerizare a substantei fundamentale* sta la baza fiziologiei si implicatiilor fiziopatologice ale acestuia.

Fibrele conjunctive pulpare sunt reprezentate de: ***colagen, reticulina*** si ***elastina***.

Colagenul este *proteina predominanta in pulpa dentara*; *in* ***pulpa dentara*** exista ***tipul I*** si ***III*** de ***colagen***.

Unul din ***rolurile fibrelor conjunctive pulpare*** este este ca ***mentin homeostazia locala*** prin *flexibilitatea starii de agregare a fibrelor de colagen*.

Prezenta ***acidozei*** sau ***colagenazelor*** duce la ***disocierea fasciculelor fibrelor de colagen*** urmata de ***depolimerizarea*** lor,

Secundar depolimerizarii:

- se asigura *o cale directa de acces a celulelor fagocitare spre situsul inflamator* (***efect benefic***),
- *creste infiltratia seroase*, fiind o *bariera impotriva atragerii fibroblastilor* spre *focarul inflamator* (***efect defavorabil***).

Lichidul interstitial este un *transudat plasmatic* cu *compozitie asemanatoare plasmei*, iar *principala sursa* a *lichidului interstitial* sunt *capilarele*.

Presiunea intrapulpara (*dependenta de presiunea lichidului interstitial*) prezinta *variatii* in diferite circumstante:

- ***fiziologice*** (*practic la fiecare sistola*),
- ***patologice*** – in situatii asociate cu *inflamatie locala*.

Circulatia pulpara

Asigura ***comunicarea pulpei dentare*** *cu restul sistemului circulator*, la nivelul ***foramenului apical***.

Pulpa dentara este un *organ intens vascularizat*, cu ***rol*** in ***adaptarea fluxului sanguin pulpar*** in functie de:

- *existenta* ***zonelor de sinteza intensa*** (*zonele de dentinogeneza*) sau
- ***raspunsul defensiv*** (*faza inflamatiei locale reversibile*).

Venulele limfatice pulpare au *rol* ***antiinflamator*** (*drenarea produsilor toxici*) si *de* ***vindecare a tesutului pulpar*** in ***etapa inflamatiei reversibile***.

La nivelul ***pulpei dentare*** exista o ***inervatie*** extrem de bogata, unele dintre ***neuropeptide***, cum este *substanta P*, este considerata agent al ***inflamatiei neurogene***, ce induce *sinteza de histamina, bradikinina* si *prostaglandine*.

Inflamatia pulpara (pulpita)

Inflamatia pulpara poate fi privita ca si ***totalitatea reactiilor locale*** *(legate de functia si structura pulpei dentare inflamate*) cu scopul de *a compensa* si *restabili tesutul pulpar*.

Integritatea peretilor duri care acopera pulpa, reprezinta o ***bariera*** *eficienta* impotriva agentilor patogeni; orice ***uzura exagerata*** (*inclusiv manevre de slefuire in conditii tehnice incorecte*) ***dezechilibre functionale*** si ***morfologice***, induc ***alterari locale*** cu *favorizarea efectelor diverselor noxe externe*.

Cresterea patologica a presiunii intrapulpare (*mai mare de 10 mmHg*) induce *tulburari functionale locale* (*autoagresiune impotriva tuturor structurilor pulpare*) ce vor *amplifica reactiile inflamatorii locale*.

Schimburile intre ***mediul bucal*** si ***camera pulpara*** au loc pe 2 cai:

- primordial prin ***foramenul apical*** dar si
- prin ***canaliculele dentare***.

Dintre ***functiile organului pulpar*** se pot mentiona:

1. *formarea* **dentinei primare** (*structurata inca din* **perioada preeruptiva**),
2. *formarea* **dentinei secundare** (*ce se formeaza* **post-eruptie dentara**),
3. *formarea* **dentinei tertiare** (*prin reactia pulpara consecutiva unor* **stimuli patogeni***: de exemplu in cursul* **proceselor carioase**),
4. ***remineralizarea matricei dentinare***, *secundar leziunilor carioase demineralizante,*
5. ***labilitatea structurii celulare pulpare*** care *in prezenta inflamatiei* permite, *transformarea fibroblastului* in *histiocit* (*celula fagocitara a acestei structuri*),
6. *modificarile* in *consistenta substantei fundamentale* in *conditii de inflamatie*, facilitand ***difuzibilitatea procesului inflamator,***
7. asigura un ***pH-ul alcalin*** (*datorat fosfatilor si carbonatilor locali* si favorizeaza *tamponarea mediului* in conditii de *inflamatie locala*;
   daca *mecanismele de aparare locala* sunt *depasite*, *capacitatea locala de neutralizare* este *afectata*, in timp:
   - se epuizeaza mecanismele de mentinere a unui pH alcalin,
   - se dezvolta *un pH-ul acid cu efecte nefavorabile* asupra *pulpei dentare*:
     - *favorizarea depolimerizarii mucopolizaharidelor,*
     - *cresterea permeabilitatii locale,*
     - *degradarea tisulara si celulara cu dezvoltarea colectiei purulente, cu incetinirea formarii de dentina de reactie*.

Dintre multiplele ***etiologii ale pulpitelor***, ***inflamatia*** ocupa un ***rol central***.

Cel mai frecvent, ***inflamatia locala*** se datoreaza ***agresiunii microbiene***, care poate actiona fie:

- ***direct*** (*prin patrunderea agresorului in pulpa dentara*) sau
- ***indirect*** (ca *rezultat al patrunderii intracanaliculare a produsilor sintetizati de catre microorganisme, de exemplu a exotoxinelor*).

Evolutia pulpitei este fie:

- ***favorabila***, *spre vindecare* cu ***restitutio ad integrum*** (*cand inflamatia este reversibila cu intervintie terapeutica in timp util*) sau
- ***nevaforabila*** (*pana la necroza locala*).

Evolutia procesului inflamator este conditionata de ***gradul de virulenta** a **agresorului*** si de ***capacitatea de aparare locala** a tesutului agresat*.

Intervalul de timp scurs *din momentul agresiunii* pana *la aparitia primelor simptome de inflamatie locala* (*pana la 14 ore*) a fost denumita "***tacerea fiziopatologica***".

Chiar daca *din punct de vedere* ***clinic*** este *o perioada "**muta**"*, ea este ***foarte activa** la **nivel celular** si **subcelular**,* in ceea ce priveste ***reactiile locale*** de tip: ***biochimic*** si de ***aparare locala*** (*sinteza de citokine proinflamatorii, aflux de celule fagocitare din circulatia sanguina etc*).

In urma unor studii extrem de complexe, s-a stabilit chiar ***o ordine de intrare*** "***in scena***" a ***mecanismelor de aparare locala***:

*1. **activarea unei kinaze** ce apartine fibroblastilor,*

*2. **formarea intracelulara** de **polipeptide toxice** ce vor activa **vasodilatatia locala**,*

*3. interventia altor **mediatori ai inflamatiei**: **exudina**, **leucotaxina**, **histamina**,* participand la ***amplificarea hiperemiei locale*** (*vasodilatatie cu aflux de citokine proinflamatorii si fagocite circulante*).

Daca *in aceasta etapa* se intervine *terapeutic eficient*, *vindecarea* poate avea loc cu "*restitutio ad integrum*" cu ***restabilirea echilibrului functional***.

Daca ***starea de vasodilatatie locala persista***, va aparea ***procesul de marginatie leucocitara***, cu *scaderea tensiunii O_2* la acest nivel, *secundar hipoxia* va accentua *vasodilatatia locala*.

Acest lucru va duce in continuare la ***extravazarea plasmei*** (*cu continut bogat in fibrina, si globuline*); ***cresterea volumului fluidului local*** mai participa si la ***depolimerizarea substantei fundamentale***.

Odata cu ***diapedeza leucocitara***, ***infiltratul seros*** se transforma *intr-**un infiltrat sero-celular***, cu dezvoltarea unei ***pulpite purulente***, care *fara interventie terapeutica corecta* va duce la aparitia ***gangrenei pulpare***.

Ca ***raspuns*** la ***agresiunea locala***, ***pulpa dentara*** isi *intensifica procesele metabolice celulare*, cu *cresterea secundara* a *consumului de* O_2, ***ciclul Krebs*** este *blocat* la nivelul *producerii de* **acid piruvic** si **lactic**, cu **acumularea** lor *la nivel* ***pulpar***.

Consecinta acestor evenimente este ***scaderea pH-ului pulpar***, care odata cu *epuizarea mecanismelor locale de compensare*, va favoriza ***depolimerizarea acidului hialunoric*** si ***acidului condroitinsulfuric*** din ***substanta fundamentala***.

Gangrena pulpara reprezinta ***mortificarea aseptica*** sau ***septica*** **a** ***pulpei dentare***; in cazul ***etiologiei microbiene***, cel mai frecvent implicati sunt:

- *enterococii* (*S. faecalis*),
- s*tafilococul alb*,
- *lactobacili*,
- *candida albicans* ***(****fig. 139****)***.

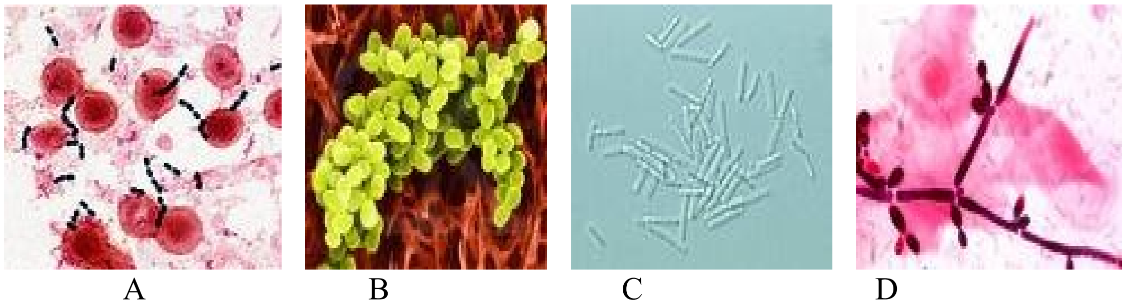


Fig. 139- Enterococii (A), stafilococul alb (B), lactobacilii (C), Candida albicans (D)

Patologia carioasa

Cariile reprezinta ***disolutia localizata a smaltului*** (***demineralizare***) prin ***producerea de acid*** – in mod special prin *catabolismul carbohidratilor din alimente* (*in cursul metabolismului bacteriilor din placa dentara*) ***(****fig. 140****)***.

Functia de tamponare a salivei este dependenta de valoarea ***pH-ului placii*** (*care in conditii fiziologice este neutru*).



Fig.140 – Carii dentare

In conditii de ***scadere a pH-ului local***, din cauza *productiei locale de acid* (*mai ales de acid lactic*) ***lactobacilii acido-toleranti*** si ***S. mutans*** sunt favorizati de acest ambient.

Etapele initiale de dezvoltare a *cariilor* sunt ***reversibile*** si ***remineralizarea*** poate apare in special ***in prezenta fluorurilor***.

La *varsta mai inaintata* ***regresia gingiilor*** pot *expune radacina,* la *atacul carios*. *Incidenta* creste prin *consum excesiv de sucroza*.

Toate *procedurile preventive, restaurative si prostetice – influenteaza dezvoltarea cariilor.*

Diferentele in functiile salivare pot influenta ***cantitatea*** si ***compozitia streptococilor*** *in* ***biofilmele orale***.

Gazda sanatoasa este *protejata* ***impotriva degradarii carioase*** prin *3 mecanisme*:

1. ***actiunea de curatire a limbii si mucoaselor bucale***;
2. ***efectul tampon al salivei*** – al carei *pH neutru* spala bacteriile si acizii si *furnizeaza substratele esentiale* pentru *remineralizarea* si *repararea leziunilor suprafetelor dintilor*;
3. ***efectul protector a unui invelis acelular***, de ***origine salivara*** care actioneaza ca si o *bariera* la *atacul acid* din *alimente* si *bacterii*.

Alte *mecanisme de aparare* includ:

- *flora rezisenta normala,*
- *descuamarea celulara de suprafata,*
- *lizoenzimele salivare,*
- *lactoferina,*
- *lactoperoxidaze.*

Gingivitele si stomatitele

Sunt afectiuni inflamatorii, care afecteaza intr-un procent mare populatia, chiar de la varsta tanara.

Epiteliul jonctional (***EJ***) in virtutea *structurii* si *functiei unice*, ofera ***o bariera eficienta*** impotriva ***patogenilor periodontali bacterieni*** si a ***produsilor*** lor.

Oricum, ***patogenii periodontali*** (*in special* ***P.gingivalis***) pot altera integritatea lui, permitand *raspandirea subgingivala* a bacteriilor si a *antigenelor lor*.

Reactia inflamatorie duce la ***degradarea tesutului de conexiune***, intai *in jurul vaselor sanguine* si apoi *in regiunile adiacente*, ducand la ***dezintegrarea functiei*** si ***structurii gingiilor***.

Una dintre modificarile din *boala periodontala* (***BP***) este ***migrarea epiteliului jonctional*** de-a lungul suprafetei radacinii, ducand la formarea:

- unui ***epiteliu jonctional alungit*** si
- a ***pungii gingivale***.

Alterarea structurala este insotita de numeroase ***tulburari functionale***, in primul rand ***directia de migrare a neutrofilelor si a fluxului exudatului crevicular transepitelial*** se schimba drastic. Acest fenomen se datoreaza faptului ca suprafata libera a epiteliului, este acum detasata de la baza sacului (*in relatia cu suprafata radacinii dintelui*).

De asemenea, ***suprafata libera dentara*** creste in dimensiune, fiind astfel *mai mult expusa la placa bacteriana*.

Cand se instaleaza ***gingivita (****fig. 141****)***, *tesutul de conexiune de vecinatate a epiteliului de jonctiune* este *constant alterat* de catre ***raspunsul inflamator***.

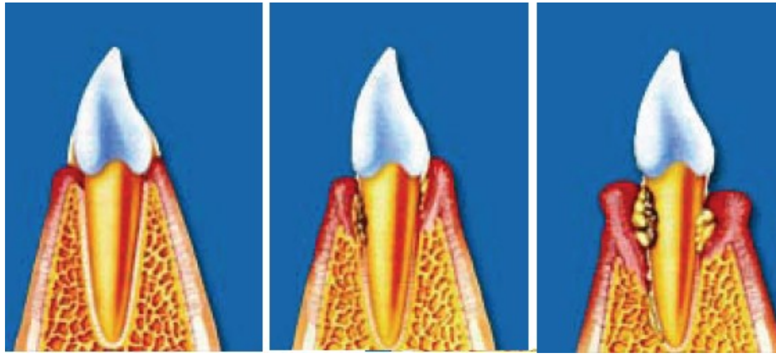


Fig. 141– Evolutia gingivitei

Bacteriile cauzeaza ***leziuni tisulare*** *printr-un* ***mecanism indirect***, de *exacerbare a raspunsului imun al gazdei*.

Rolul fluidului crevicular

Fluidul crevicular este un ***exudat*** ce *variaza in compozitie*, se gaseste ***in pungile*** si ***santurile periodontale***, ***intre dinti si gingia marginala***.

Contine :

- componente serice,
- celule inflamatoare,
- tesut conectiv,
- epiteliu,
- flora bacteriana ce traieste pe marginea gingivala sau in santul gingival;

In *santul gingival sanatos*, *fluidul crevicular* exista in *cantitate foarte mica*.

In cursul ***inflamatiei***, *volumul* ***fluidul crevicular*** *creste* si *compozitia* lui incepe sa semene cu a unui ***exudat inflamator***; *cresterea fluxului* contribuie la spalarea:

- ***coloniilor bacteriene*** si
- a ***metabolitilor lor din santuri***

astfel ***restrictionand penetrarea lor*** la nivel ***local***.

Ruta de difuziune a fluxului crevicular este ***prin membrana bazala externa*** apoi ***prin spatiile intercelulare largi ale EJ*** (*cu grosime variabila*) intr-un final ajunge ***in santurile gingivale***.

Schimbarile din compozitia fluidului crevicular se datoreaza fie:

- *bacteriilor*,

- *metabolitilor/enzimelor* sau
- *reactiilor de tip inflamator*, ce par a fi *mai intense la nivelul **EJ coronar***.

Agentii bacterieni ce exista ***in fluidul crevicular*** si sunt *implicati in **BP*** sunt*:*

- *endotoxinele,*
- *H_2S,*
- *acidul butiric,*
- *acidul propionic,*
- *colagenaza bacteriana* si
- *alte proteaze* (*hialuronidaza, neuraminidaza* etc).

Factorii gazdei asociati inflamatiei sunt:

- *proteinele sistemului Complement,*
- *prostaglandinele,*
- *diferite citokine,*
- *enzime intra-celulare,*
- *produsi de degradare celulara,*
- *lactat dehidrogenaza,*
- *poliamine,*
- *peptide colagenice*.

Tot aici exista ***agentii antimicrobieni*** si ***enzimele derivate din leucocite*** – cum sunt :

- *lizozomii,*
- *fosfataza alcalina,*
- *β-glicuronidaza,*
- *catepsina D,*
- *elastaza,*
- *colagenaza,*
- *lactoferina,*
- *osteonectina si*
- *fibronectina*.

Moleculele biologic active pe care le contine ***fluidul crevicular***, au un potential crescut de ***influentare a cresterii EJ***, la fel ca si ***bacteriile orale***, amandoua fiind ***in competitie*** pentru *suprafetele dentare* la ***nivelul interfetei dento-gingivale***.

BIBLIOGRAFIE

http://pathmicro.med.sc.edu/book/immunol-sta.htm

http://image.bloodline.net/category

http://www.microbiologybytes.com/iandi/index.html

http://www-immuno.path.cam.ac.uk/~immuno/part1.html

http://www.bio.davidson.edu/courses/movies.html

http://www.bio.davidson.edu/courses/Immunology/bio307.html

www.daviddarling.info/.../B/bacteria.html

www.peteducation.com/article.cfm?cls=16&cat=1...

www.peteducation.com/article.cfm?cls=16&cat=1...

www2.kenyon.edu/.../Chap01/Chapter_01a.html

www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/genmicr.htm

focosi.altervista.org/physiobacteria.html

www.bmb.leeds.ac.uk/mbiology/ug/ugteach/newde...

www.biotopics.co.uk/edexcel/bacter.html

www.gsbs.utmb.edu/microbook/ch005.htm

www.sci.sdsu.edu/.../conjugation-mech.html

library.thinkquest.org/.../DNA.htm

www.answersingenesis.org/tj/v13/i1/viruses.asp

www.bmb.leeds.ac.uk/.../bacterialinfect06.html

web.indstate.edu/thcme/micro/bactGen/Bacgenet.htm

www.nonoil.com/bio/engineering/chapt2.htm

www.ratsteachmicro.com/Bacterial_Genetics/HCO...

www.merck.com/mmpe/sec13/ch163/ch163d.html

www.venomsupplies.com/universalantivenom/immu...

www.devicelink.com/mddi/archive/98/05/024.html

home.earthlink.net/~dayvdanls/Immune_lecture.html

www.tjclarkdirect.com/bacterial_diseases/stre...

www.biotox.cz/.../clostridium_tetani.htmc

lastovka.wordpress.com/2006/12/15/f99/

pl.wikipedia.org/wiki/T%C4%99%C5%BCec

www.thaisnews.com/prdnews/leptospirosis/

www.cartage.org.lb/.../GeneralProperties.htm

www.thepigsite.com/pighealth/article/80/antib...

webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_nih/a_nih_1_001c.as...

medinfo.ufl.edu/.../bms5300/bugs/staepid.html

www.j-archive.com/showgame.php?game_id=1080

www.unis.org/UNIScienceNet/IBHbio2_knowledge.html

universitas.usal.es/.../Demo1/shigella.html

http://images.google.com/imgres?imgurl=http://ic.ucsc.edu/~wxcheng/envs23/lecture8/FG05_02.JPG&imgrefurl=http://ro.wikipedia.org/wiki/Procariot&h=1200&w=1447&sz=286&hl=en&start=2&tbnid=oB94U9Biq4qgpM:&tbnh=124&tbnw=150&prev=/images%3Fq%3Dstructura%2Bcelulei%2Bbacteriene%26gbv%3D2%26svnum%3D10%26hl%3Den%26sa%3DG www.asnom.org/en/443_amibiase.html

http://pathmicro.med.sc.edu/parasitology/intest-protozoa.htm

www.cvm.okstate.edu/.../clinpara/lst11_20.htm

www.istanbulsaglik.gov.tr

www.microbewiki.kenyon.edu

www.case.edu